

Die renale Ausscheidung von
Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin
unter oraler Zufuhr von großen Mengen
Saccharose

1978

Franz Danner

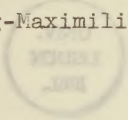
Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. N. Zöllner

DIE RENALE AUSSCHIEDUNG VON HARNSÄURE, XANTHIN UND HYPO-
XANTHIN UNTER ORALER ZUFUHR VON GROSSEN MENGEN SACCHAROSE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Franz D a n n e r

aus

Sünching

Jahr

1978



Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Wolfram

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25.04.1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552314_0041

INHALT

- 1.0 Einleitung
- 2.0 Zielsetzung
- 3.0 Methodik
 - 3.1 Versuchspersonen
 - 3.2 Versuchsdurchführung
 - 3.2.1 Formeldiät
 - 3.2.2 Urinproben
 - 3.3 Vorbehandlung des Urins
 - 3.4 Harnsäurebestimmung
 - 3.4.1 Methode Urica quant^R
 - 3.4.2 Uricase-Methode
 - 3.5 Bestimmung von Xanthin/Hypoxanthin und Harnsäure
 - 3.5.1 Methoden
- 4.0 Ergebnisse
 - 4.1 Harnsäureausscheidung
 - 4.1.1 Methode Urica quant^R
 - 4.1.2 Uricase-Methode
 - 4.1.3 Methode Liddle
 - 4.1.4 Vergleich der Methoden für die Harnsäureausscheidung
 - 4.2 Ausscheidung von Xanthin/Hypoxanthin
- 5.0 Diskussion
- 6.0 Zusammenfassung
- 7.0 Tabellen und Abbildungen
- 8.0 Literatur

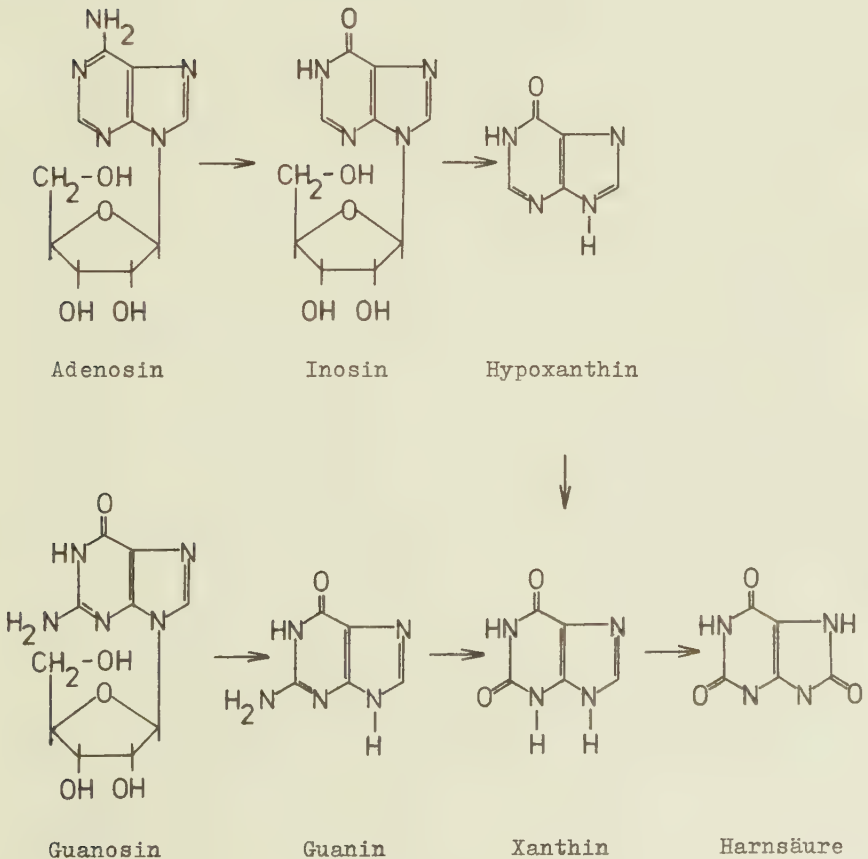
1.0 Einleitung

In den letzten Jahren sind Probleme des Purinstoffwechsels verstärkt zum Gegenstand klinisch-biochemischer Untersuchungen geworden. Einerseits erforderte die durch den steigenden Wohlstand und die verminderte körperliche Aktivität in unserer modernen Industriegesellschaft bedingte Zunahme der Häufigkeit von primärer Gicht Bemühungen zur Klärung der zugrunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen und zur Entwicklung einer davon abgeleiteten, nach Möglichkeit kausalen Therapie. Andererseits führten die verbesserten Möglichkeiten einer differenzierten Diagnostik und einer effektiven radiologischen oder cytostatischen bzw. onkolytischen Therapie von Hämoblastosen und malignen Tumoren zu einem Ansteigen der Häufigkeit auch der sekundären Hyperurikämien mit der Gefahr der Ausprägung entsprechender klinischer Krankheitsbilder wie Arthritis urica, Uratnephropathie und Uratnephrolithiasis. Nach M e r t z³⁵ leiden ca. 1 - 2 % der männlichen erwachsenen Bevölkerung in einer Überflußgesellschaft an manifester aber häufig nicht diagnostizierter primärer Gicht - ein Prozentsatz, der durchaus dem der Morbidität an Diabetes mellitus vergleichbar ist. Eine signifikante familiäre Häufung legt den Schluß nahe, daß eine genetisch fixierte Stoffwechselstörung der Entwicklung einer primären Hyperurikämie zugrunde liegt, ohne daß bis heute die genaue Natur des Defekts aufgeklärt werden konnte. Für die bei menstruierenden Frauen gegenüber altersgleichen Männern deutlich erniedrigten Serumharnsäurespiegel hingegen werden Östrogene verantwortlich gemacht, die eine verstärkte renale Harnsäureausscheidung bewirken⁴². Die Erfahrung eines entscheidenden Rückgangs von Gichterkrankungen in Notzeiten deutet darauf hin, daß zur klinischen Manifestation der hereditären Veränderungen im Purinstoffwechsel zusätzliche Umweltfaktoren ähnlich wie bei essentieller arterieller Hypertension, Diabetes mellitus und bestimmten atherosklerotischen Veränderungen hinzukommen müssen. Als solche wären in erster Linie Übergewicht durch verminderte körperliche Aktivität einerseits

und überkalorische Ernährung andererseits, Alkoholabusus und erhöhte Purinzufuhr mit der Nahrung zu nennen. Darüberhinaus konnte bei dem von L e s c h und N y h a n²⁹ 1964 beschriebenen "Syndrom der zerebralen Schädigung und Hyperurikämie" als X-chromosomal gebundener Defekt das Fehlen bzw. das Vorliegen des biochemisch inerten Enzyms Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase nachgewiesen werden. Im Rahmen der Purinbiosynthese führt mangelnde Aktivität dieses Enzyms durch verminderte Synthese der Nukleotide Inosinsäure, Guanylsäure und Adenylsäure trotz genügend hoher Hypoxanthinkonzentration im Plasma zum Wegfall der Feed-back-Hemmung und somit zur Anhäufung von endogenen Harnsäurevorstufen. Harnsäure ist nämlich beim Menschen Endprodukt des Stoffwechsels der Purinribonukleotide, die neben den Pyrimidinnukleotiden durch Polymerisation die Nukleinsäuren DNA und RNA bilden und die im Intermediärstoffwechsel als Coenzyme bzw. als wesentliche Bestandteile von solchen fungieren. Ein weiterer Abbau von Harnsäure zu Allantoin, wie bei den meisten anderen Säugetieren, findet beim Menschen wegen zu geringer Aktivität des dafür nötigen Enzyms Uricase nicht oder zumindest nicht in quantitativ nennenswerter Form statt. Die Ausscheidung der Harnsäure erfolgt zu ca. zwei Drittel in der Niere durch glomeruläre Filtration sowie Reabsorption und Sekretion mit Hilfe eines im proximalen Tubulusabschnitt lokalisierten bidirektionalen aktiven Transportmechanismus. Der hauptsächliche extrarenale Ausscheidungsweg für Harnsäure ist der Gastrointestinaltrakt. Daneben kommt der Harnsäureelimination durch Schweiß und Milch keine quantitative Bedeutung zu. Eine exakte mengenmäßige Bestimmung der enteral ausgeschiedenen Harnsäure wird durch die im Magendarmtrakt stattfindende bakterielle Uricolyse erschwert und ist in der Regel nur mit Hilfe einer Rückrechnung vom wiedergewonnenen Anteil auf eine vorher parenteral zugeführte Menge annäherungsweise möglich. Bei einer renalen Ausscheidungsschwäche für Harnsäure kann die enterale Eliminationsrate allerdings nur bis zu einem gewissen Grad - nämlich nicht entgegen einem Konzentrationsgradienten - gesteigert, und so die Entstehung einer Hyperurikämie nur

kurzfristig verzögert werden.

Unmittelbare Vorstufen der Harnsäure im Rahmen des Purinbasenabbaus sind die Oxypurine Xanthin (aus Guanosin durch Desaminierung) und Hypoxanthin (aus Inosin durch phosphorolytische Abspaltung der Ribose bzw. aus Adenosin durch vorhergehende Desaminierung als Nukleosid zu Inosin). Das Enzym Xanthinoxidase oxidiert Hypoxanthin zu Xanthin und dieses weiter zur Harnsäure.



Die Entdeckung des zu Hypoxanthin stellungsisomeren Allopurinol (4 OH-Pyrazolo-[3,4d] - pyrimidin), eines kompetitiven Xanthinoxidasehemmers, und des S-substituierten Thiopurinol, das nach Umwandlung in sein Nukleotid mit Hilfe der Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase durch Rückkopplung die Aktivität der Phosphoribosylpyrophosphat-Amidotransferase und somit die Frühstadien der Purinsynthese hemmt, führte zu einer heute allgemein verbreiteten, den pathogenetischen Mechanismus beeinflussenden Therapie der Gicht im anfallsfreien Intervall. Die unter Allopurinol anstelle von Harnsäure in verstärktem Maße anfallenden Oxypurine führen wegen ihrer besseren Wasserlöslichkeit nicht zu Ablagerungen in Form auskristallisierter Salze und werden aus dem selben Grunde auch leichter renal eliminiert. Eine weitere therapeutische Anwendungsmöglichkeit für Xanthinoxidasehemmer ergab sich im Rahmen der Krebstherapie außer zur Verhinderung von sekundären, durch den gesteigerten Zellzerfall bedingten Hyperurikämien auch durch die Tatsache, daß bestimmte cytostatische und immunsuppressive Pharmaka aus der Gruppe der Thiopurine wie z. B. 6-Mercaptopurin oder Azathioprin durch Xanthinoxidase abgebaut werden und diese somit bei gleichzeitiger Verabreichung von Allopurinol niedriger dosiert werden können, wodurch sich bei gleichem therapeutischen Effekt deren zum Teil schwerwiegende Nebenwirkungen vermindern lassen. Neueren Erkenntnissen zufolge²³ zeigt Allopurinol und sein mit Hilfe von Xanthinoxidase entstehender Hauptmetabolit Alloxanthin auch eine ausgeprägte Hemmwirkung auf die De-novo-Synthese von Pyrimidin. Deshalb führten auch erste Behandlungsversuche mit Allopurinol bei Psoriasis⁵⁴ zu durchaus vielversprechenden Ergebnissen zumal die unerwünschten Nebenwirkungen von Allopurinol weit weniger gravierend sind als die von Substanzen mit etwa gleich großer Hemmung der Pyrimidinsynthese wie z. B. Triacetylazauridin.

Sekundäre Hyperurikämien lassen sich neben den bereits angesprochenen Fällen auch im Gefolge bestimmter anderer therapeutischer und diätetischer Maßnahmen beobachten. So führt außer der radiologischen oder cytostatischen Therapie von bösartigen Tumoren durch vermehrten Anfall von Harnsäure auch eine Langzeitbehandlung mit Thiazidsaluretika wie z. B. Chlorothiazid, Furosemid, Etacrynsäure, Chlorthalidon, Hydrochlorothiazid und Azetazolamid^{8, 26, 36, 49, 50} wahrscheinlich über eine Mobilisation von Harnsäure aus dem Harnsäurepool oder durch die harnsäureretinierende Wirkung einer Abnahme des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens zur Entwicklung einer, nach Beendigung der Medikation reversiblen, Hyperurikämie. Hyperlaktatazidämie nach schwerer Muskelarbeit, bei Alkoholintoxikation und Schwangerschaftstoxikose bedingt durch Hemmung der renalen Uratexkretion ebenfalls einen Anstieg der Serumharnsäurekonzentration. Nach hochdosierter rascher Infusion von Kohlenhydraten wie Xylit, Sorbit und Fructose läßt sich ein Anstieg des Serumlaktatspiegels, des Serumharnsäurespiegels und der renalen Harnsäureexkretion beobachten. Die vermehrte renale Elimination und die Tatsache, daß sich die Entwicklung der passageren Hyperurikämie in diesem Fall durch vorherige Allopurinolverabreichung verhindern läßt, weist auf einen anderen Mechanismus als den der durch Hyperlaktatazidämie bedingten renalen Harnsäureretention hin. Fox und Kelly¹⁴ infundierten vier männlichen Patienten mit klinisch manifester Gicht innerhalb von 10 Minuten 0,5 g/kg Körpergewicht Fructose in Form einer 20 %igen, durch Ultrafiltration sterilisierten Lösung, nachdem die tägliche Harnsäureausscheidung mit Hilfe einer im wesentlichen purinfreien Diät fünf Tage vor und während der Versuchsperiode equilibriert und 10 Tage zuvor alle Medikamente abgesetzt worden waren, von denen eine Beeinflussung des Stoffwechsels oder der Ausscheidung von Harnsäure bekannt ist. Die Probanden durften 12 Stunden vor Versuchsbeginn außer Wasser nichts zu sich nehmen. Sie standen alle unter Colchicin- und einer zusätzlich unter Chinidinbehandlung. Am Morgen des Versuchstages wurde erst eine

isotone Kochsalzinfusion angelegt und während einer einstündigen Kontrollperiode mehrere Blutproben abgenommen. Auch der Urin dieser einstündigen Kontrollperiode wurde gesammelt. Bis zum Ablauf der 3. Stunde nach dem Start der Fructoseinfusion erfolgten Blutabnahmen in Intervallen von 15 Minuten in der ersten, 30 Minuten in der zweiten und am Ende der 3. Stunde. Für die Bestimmungen im Harn wurde der Urin in 3 Portionen für jeweils eine Stunde bereitgestellt. Bei zwei der Patienten wiederholten sie den gesamten Versuch nachdem sie ihnen 2 Tage zuvor 600 mg/die Allopurinol verabreicht hatten. Unter diesen Voraussetzungen kamen sie zu folgenden Ergebnissen: Die Fructoseinfusion führt zu einem signifikanten Anstieg der Plasmaharnsäure mit einem maximalen Effekt 30 - 45 Minuten nach Start der Infusion. Nach Allopurinolbehandlung erhöht sich der Harnsäurespiegel nicht. Es zeigt sich ein wesentlicher Anstieg der renalen Harnsäureausscheidungsrate mit Maximum in der ersten Stunde nach der Infusion. Die Ausscheidung nach Allopurinolvorbehandlung war nur gering erhöht. Ein auffallender Anstieg ergab sich auch für die Ausscheidung der Oxyपुरine und zwar nach Allopurinol ausgeprägter als ohne. Für Erythrozyten-Phosphoribosylpyrophosphat, ein limitierendes Substrat für den Anfangsschritt der De-novo-Synthese von Purinen, zeigte sich eine geringe aber signifikante Abnahme nach 30 - 45 Minuten. Auf die ATP-Konzentration in den Erythrozyten hatte die Fructoseinfusion keinen Einfluß; ebenso wenig auf die gesamten reduzierenden Zucker, Glukose und anorganisches Phosphat. Der sich nach 30 Minuten einstellende merkliche Anstieg des Serumlaktatspiegels erwies sich als durch Allopurinol nicht beeinflusbar.

2.0 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob unter oraler Zufuhr von relativ hohen Mengen von Fructose in Form des Disaccharids Saccharose (α -Glucopyranosido- β -fructofuranosid) über einen mehrtägigen Zeitraum eine Veränderung der renalen Elimination von Harnsäure und Oxyपुरinen im Sinne eines Anstiegs erfolgt. Zur Sicherung der Ergebnisse wurde die Harnsäure mit drei verschiedenen Methoden bestimmt.

3.0 Methodik

Um den Einfluß einer erhöhten oralen Saccharosezufuhr auf die Ausscheidung von Harnsäure und Oxypurinen im Urin des Menschen zu erfassen, wurden Urinproben, die bei einem Ernährungsexperiment mit Formeldiät bereits gesammelt und tiefgefroren aufbewahrt worden waren, mit speziellen Methoden untersucht.

3.1 Versuchspersonen

Die notwendigen Angaben zu den Versuchspersonen sind in Tabelle 1 enthalten.

3.2 Versuchsdurchführung

Die gesunden jungen Versuchspersonen erhielten eine isokalorische Formeldiät, in der Oligopolymere der Glucose (Dextrosin) gegen Saccharose ausgetauscht wurden. In der vorliegenden Arbeit wurden die Bestimmungen von Harnsäure und Oxypurinen im Urin unter Normalkost unter Dextrosin und unter Saccharose durchgeführt.

3.2.1 Formeldiät

Die Zusammensetzung der Saccharosehaltigen Formeldiät ist in Tabelle 2 angegeben.

3.2.2 Urinproben

Die 6 Versuchspersonen sammelten während des ganzen Versuches den 24-Stundenurin, von dem nach gründlichem Vermischen eine Probe sofort tiefgefroren wurde.

3.3 Vorbehandlung des Urins

Der tiefgefrorene Urin wurde nach Entfernen der Reagenzglasstöpsel bei Zimmertemperatur aufgetaut und im Wasserbad erwärmt. Die Gläser wurden wieder verschlossen, kräftig durchgeschüttelt und 1 ml des wieder auf Zimmertemperatur abgekühlten Urins wurde in einen 10 ml-Meßkolben abpipettiert. Um ein leicht alkalisches Milieu zu schaffen, in dem die gesamte Harnsäure in Lösung geht, wurden 0,5 ml einer

0,5 %igen Lithiumcarbonatlösung zugesetzt. Durch Auffüllen des Meßkolbens bis zur Meßmarke mit metallionenfreiem Aqua bidestillata wurde eine Vorverdünnung des Urins von 1 : 10 erreicht. Diese Lösung wurde erneut kräftig durchgeschüttelt, im Wasserbad nochmals erhitzt und heiß filtriert. Nach Abkühlen auf Umgebungstemperatur wurde ein Teil des Filtrats entsprechend einer der nachfolgend beschriebenen Bestimmungsmethoden, entweder unverdünnt oder mit Aqua bid. bzw. Pufferlösung auf 1 : 100 bzw. 1 : 250 verdünnt, weiterbehandelt.

3.4 Harnsäurebestimmung

Die renale Harnsäureausscheidung wurde im 24-Stunden-Sammelurin mit drei verschiedenen enzymatischen Bestimmungsmethoden quantitativ untersucht.

3.4.1 Methode Urica quant^R

Seit Sommer 1973 steht eine Testkombination Urica quant^R 53 der Firma Boehringer Mannheim GmbH zur Verfügung. Es handelt sich um einen enzymatischen Farbstest, der es ermöglicht, mit relativ geringem zeitlichen Aufwand und unter Verwendung eines nur im Bereich des sichtbaren Lichtes (400 - 700 nm) arbeitenden Photometers die Konzentration der Harnsäure in verschiedenen biologischen Flüssigkeiten zu bestimmen. Das Wirkungsprinzip beruht auf dem enzymatischen Abbau der Harnsäure mit Hilfe von, in der Regel aus Pilzen wie z. B. *Aspergillus flavus* gewonnener Uricase zu Allantoin und Wasserstoffperoxyd. Letzteres oxidiert unter Einwirkung des Enzyms Katalase Methanol zu Formaldehyd. In Gegenwart von Ammoniumionen bildet das so entstandene Formaldehyd mit Acetylaceton eine gelbgefärbte Verbindung, deren Farbintensität der zu bestimmenden Harnsäurekonzentration proportional ist und zwischen 405 bis 415 nm gemessen wird. Es werden folgende Materialien benötigt:

Reagenzgläser mit Ständer

10 ml-Meßkölbchen

Vollpipetten mit 5 ml; 2,5 ml und 0,02 ml (am besten Mikropipetten) Kapazität

Bechergläser

Wasserbad mit der Möglichkeit der konstanten Temperatureinstellung

2 Glasküvetten mit 1 cm Schichtdicke und mindestens 3 cm³

Fassungsvermögen

Photometer mit Meßbereich zwischen 405 und 415 nm

evtl. Parafilm zum Durchschütteln der Bestimmungsansätze in den Reagenzgläsern

Die nachfolgend beschriebene Arbeitsvorschrift lehnt sich an die Angaben von K a g e y a m a²¹ an.

Lösungen (in der Testkombination)

1 Puffer/Katalase

(0,5 M Ammoniumphosphat-Puffer, pH = 7,0; 2,5 M Methanol; 700 U Katalase/ml)

2 Chromogen

(0,42 M Acetylaceton; 2,5 M Methanol)

3 Standard-Lösung

(6 mg Harnsäure/100 ml bzw. 0,36 mM/l)

4 Uricase-Lösung

(5 U Uricase/ml 50 % Glycerin)

Aus 20 Teilen Lösung 1 und einem Teil Lösung 2 mischt man das Harnsäure-Reagenz, Lösung 5 (0,48 M Ammoniumphosphat-Puffer, pH = 7,0; 2,5 M Methanol; 20 mM Acetylaceton; 670 U Katalase/ml). Diese ist in brauner Flasche sowohl bei + 4° C als auch bei + 25° C nur wesentlich kürzere Zeit haltbar als Lösung 1 und Lösung 2 getrennt.

Man pipettiert auf den Boden von Reagenzgläsern für den Probenleerwert 0,5 ml unverdünntes Serum bzw. Standardlösung bzw. 1 : 10 verdünnten Urin und 5,0 ml Lösung 5 (Harnsäure-Reagenz). Für den Probenwert pipettiert man ebenfalls auf den Reagenzglasboden 0,02 ml Lösung 4 (Uricase-Lösung) und 2,5 ml aus dem Reagenzglas des Probenleerwerts. Die Gläser werden gut durchgeschüttelt und mindestens 60 Minuten lang bei 37° C im Wasserbad inkubiert. Ein Überschreiten der Inkubationszeit bis zu einer Stunde hat keinen Einfluß auf die Ergebnisse.

Die Extinktionsablesung des Probenwerts gegen den als Nullpunkt eingestellten Leerwert erfolgte an einem EPPENDORF-Photometer unter Verwendung eines Farbfilters Hg 405 nm und Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke.

Nachdem die Extinktion des beigegebenen Standards im angegebenen Sollbereich lag, konnte für die Berechnung der genannte Proportionalitätsfaktor verwendet werden und es ergab sich für die Harnsäurekonzentration

$$\begin{aligned} \text{im Serum: } c &= 25 \times \text{Extinktion (mg\%)} \\ \text{und im Urin : } c &= 250 \times \text{Extinktion (mg\%)} \end{aligned}$$

Die Normalwerte der Serumharnsäurekonzentration liegen für Männer bei 3,4 - 7,0 mg% bzw. 0,20 - 0,42 mM/l und für Frauen bei 2,4 - 5,7 mg% bzw. 0,14 - 0,34 mM/l.

Sowohl mit Serum als auch mit Urin wurden mehrere Eichkurven aufgestellt und mehrere Zehnfachbestimmungen von ein und derselben Probe durchgeführt. Abbildung 1 zeigt eine der unter Verwendung von Serum gewonnenen Eichkurven (Mittelwerte mit je 3 Einzelwerten). Die dazugehörigen Zahlenwerte sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Das Ergebnis von je einer Zehnfachbestimmung im Serum und im Urin veranschaulichen die Abbildungen 5 und 6 mit den entsprechenden Meßwerten in Tabelle 4 bzw. 5. Im 24-Stunden-Sammelurin aus der Versuchsperiode mit Saccharosediät wurde die Harnsäureausscheidung in mg/24 h bestimmt, indem die ermittelte Harnsäurekonzentration in mg% mit 0,01 x Urinvolumen der 24 Stunden-Periode in ml multipliziert wurde. Für die entsprechenden Werte wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

3.4.2 Uricase-Methode

Die Konzentrationsbestimmung der Harnsäure mit Hilfe der Uricase-Methode erfolgte nach den Angaben einer Publikation von Z ö l l n e r⁵⁸ in Anlehnung an P r a e t o r i u s und P a u l s e n⁴⁶. Die Methode erfordert einen etwas größeren zeitlichen Aufwand als die vorher beschriebene, vor allem durch die Notwendigkeit umfangreicherer Pipettierungen. Außerdem müssen ein Spektralphotometer mit einem Meßbereich bei 292/293 nm und Quarzküvetten zur Verfügung stehen. Die

ursprünglich etwas umständliche Berechnung der Harnsäurekonzentration aus der ermittelten Extinktion hingegen wurde durch die Modifikation von Zöllner⁵⁸ wesentlich vereinfacht.

Zum Wirkungsprinzip:

Harnsäure besitzt eine typische Lichtabsorptionsbande im UV-Bereich mit Maximum bei 292/293 nm. Die Intensität der Absorption ist dabei proportional der Harnsäurekonzentration. Die durch Einwirkung des Enzyms Uricase aus Harnsäure entstehenden Abbauprodukte Allantoin und Wasserstoffperoxyd zeigen bei der obengenannten Wellenlänge nur eine vernachlässigbar kleine Absorption. Ein nach Zusatz von Uricase zu einer harnsäurehaltigen Probe zu beobachtender Absorptionsabfall bei 292/293 nm ist also nur durch das Verschwinden der Harnsäure bedingt und proportional der vorher vorhandenen Konzentration. Es gilt also:

Konz. Harnsäure = Proportionalitätsfaktor x Absorptionsabfall

$$(1) \quad c = k \times \Delta E$$

Für die Bestimmung benötigte Materialien:

Reagenzgläser mit Ständer

Meßkolben für 50 ml und 25 ml bzw. 10 ml

Vollpipetten mit 3 ml, 2 ml, 1 ml, 0,25 ml und 0,1 bzw. 0,2 ml (am besten Mikropipetten) Kapazität

2 Quarzküvetten mit 1 cm Schichtdicke und mindestens 3 cm³ Fassungsvermögen

Spektralphotometer mit Meßbereichsmöglichkeit bei 292/293 nm evtl. Parafilm zum Durchschütteln der Bestimmungsansätze in den Reagenzgläsern

Lösungen:

- 1 Glycinpuffer-Stammlösung

0,66 m, pH = 9,3

- 2 Glycinpuffer-Gebrauchslösung

1 Teil Stammlösung wird mit 9 Teilen Aqua bid. auf 1 : 10 verdünnt

- 3 Enzympräparat

Uricase Lövens (Løvens Kemiske Fabrik, Kopenhagen)

- 4 Uricase-Stammlösung

Die in einer Ampulle enthaltene Uricasetablette (75 U) wird mit 0,25 ml der Puffer-Gebrauchslösung aufgelöst

5 Uricase-Gebrauchslösung

Die Uricase-Stammlösung wird mit Puffer-Gebrauchslösung auf 1 : 100 bzw. 1 : 200 verdünnt

Die jeweiligen Gebrauchslösungen sind auch bei + 4° C im Kühlschrank nur sehr viel kürzere Zeit ohne Beeinträchtigung der Messungen haltbar als die entsprechenden Stammlösungen. Außerdem sind, um Fehler durch ungenaue Verdünnungen oder Verunreinigungen zu vermeiden, innerhalb einer Meßreihe nur die gleichen Gebrauchslösungen zu verwenden.

Für die Bestimmungsansätze muß mit Hilfe der Puffer-Gebrauchslösung das Serum auf eine Endverdünnung von 1 : 25 und der Urin auf 1 : 250 gebracht werden. Um eine im alkalischen Milieu auftretende Spontanoxydation der Harnsäure an der Luft möglichst zu vermeiden, pipettiert man sofort daran anschließend für den Probenleerwert 2 ml verdünntes Serum bzw. Urin und 1 ml Puffer-Gebrauchslösung und für die Probe 2 ml verdünntes Serum bzw. Urin und 1 ml Uricase-Gebrauchslösung.

Da die Uricase-Gebrauchslösung bei 292/293 nm eine zu berücksichtigende Eigenextinktion aufweist, die ja im Leerwert nicht erscheint und um die die Extinktion der Probe zusätzlich zu der durch den Harnsäureabbau bedingten Verminderung im Vergleich zum Leerwert abgenommen hat, muß diese ermittelt werden und in die Konzentrationsberechnung mit eingehen. Man pipettiert für den Leerwert zur Bestimmung der Uricaseeigenextinktion 3 ml Puffer-Gebrauchslösung und für die Probe 2 ml Puffer-Gebrauchslösung und 1 ml Uricase-Gebrauchslösung. Eventuelle weitere Extinktionen durch im Urin vorhandene Substanzen brauchen nicht berücksichtigt zu werden, da sich in Probe und Leerwert gleiche Mengen des selben Urins befinden und die Uricase streng spezifisch nur die enthaltene Harnsäure abbaut.

Die ermittelte Eigenextinktion der Uricase-Gebrauchslösung soll nach Z ö l l n e r¹⁴ bei einer Verdünnung von 1 : 100 in der Größenordnung von 0,010 bis 0,015 liegen, um den prozentualen Anteil der Eigenextinktion an der Gesamtextinktion möglichst gering zu halten und auch noch bei

relativ geringen Harnsäurekonzentrationen brauchbare Meßwerte zu erhalten. Die verwendeten Uricase-Chargen zeigten jedoch bei Verdünnung 1 : 100 eine Eigenextinktion von 0,020 bis 0,028, so daß auf eine Verdünnung von 1 : 200 - das entspricht einer Enzymkonzentration von $75 \text{ U}/50 \text{ ml} = 1,5 \text{ U/ml}$ - übergegangen werden mußte, indem man die Uricase-Stamm-lösung in einem 50 ml-Kolben bis zur Meßmarke mit Puffer-Gebrauchslösung auffüllte. Diese Enzymkonzentration erwies sich als in jeder Hinsicht ausreichend. Die dabei ermittelten Uricaseeigenextinktionen lagen im Bereich von 0,013 bis 0,018.

Die Bestimmungsansätze wurden gut durchgeschüttelt und mindestens 50 bis 60 Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Diese Reaktionszeit ergab sich aus der Zeit-Wirkungskurve in Abbildung 9 mit den entsprechenden Meßwerten in Tabelle 11, die mit Hilfe von nur 1 : 100 vorverdünntem Urin gewonnen wurde. Dann erfolgte die Extinktionsmessung an einem BECKMAN DU Spektralphotometer mit Wasserstofflampe bei 293 nm und unter Verwendung von Quarzküvetten mit 1 cm Schichtdicke. Die Eigenextinktion der mit Aqua bid. gefüllten Küvetten wurde vorher bestimmt und eventuelle Unterschiede durch Subtraktion der höheren Grundextinktion ausgeglichen. Für die Eigenextinktion der Uricase wird die Probe mit 2 ml Puffer-Gebrauchslösung und 1 ml Uricase-Gebrauchslösung gegen den Leerwert mit 3 ml Puffer-Gebrauchslösung als Nullpunkt abgelesen. Zur Bestimmung der Harnsäureextinktion liest man den Leerwert mit 2 ml verdünntem Serum bzw. verdünntem Urin und 1 ml Puffer-Gebrauchslösung gegen die Probe mit 2 ml verdünntem Serum bzw. verdünntem Urin und 1 ml Uricase-Gebrauchslösung als Nullpunkt ab, um die Absorption als positiven Wert zu erhalten, obwohl die Uricasereaktion ja eine Extinktionsabnahme bewirkt. Für die Ansätze, die Enzym enthalten, sollte dabei immer die gleiche, evtl. markierte Küvette benutzt werden, um Enzymverunreinigungen der Leerwerte und daraus resultierende Extinktionsabfälle durch den, wenn auch nur geringen, Harnsäureabbau zu verhindern. Alle Messungen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt, die fast immer sehr gute Übereinstimmung ergaben. In den wenigen Fällen, in denen

dies nicht so war, wurde die Bestimmung dieser Probe mit einem neuen Ansatz wiederholt.

Die Harnsäurekonzentration berechnet sich dann in Erweiterung der Formel (1) als: (2) $c = k \times (E_U + E_{HS})$

wobei k der Proportionalitätsfaktor, E_U die Uricaseeigenextinktion und E_{HS} der durch den Harnsäureabbau bedingte Extinktionsabfall ist. Der Proportionalitätsfaktor k setzt sich aus der spezifischen Extinktion für 1 $\mu\text{g/ml}$ Harnsäure bei Verwendung der angegebenen Pufferlösung und von Quarzküvetten mit 1 cm Schichtdicke und der Gesamtverdünnung des verwendeten Serums bzw. Urins zusammen. Die spezifische Extinktion beträgt 0,0745. Die Vorverdünnung des Serums war 1 : 25 und die Verdünnung im Ansatz 2 : 3 (2 ml Serum + 1 ml Puffer-Gebrauchslösung bzw. Uricase-Gebrauchslösung). Daraus ergibt sich:

$$(3) \quad c = \frac{25 \times 3}{0,0745 \times 2} \times (E_U + E_{HS}) \mu\text{g/ml}$$

und nach Abrundung des spezifischen Extinktionskoeffizienten und Umrechnung von $\mu\text{g/ml}$ auf $\text{mg}\%$ ($= \text{mg}/100 \text{ ml}$):

$$(4) \quad c = 50 \times (E_U + E_{HS}) \text{mg}\%$$

Da die Vorverdünnung des Urins 1 : 250 betrug, berechnet sich die Harnsäurekonzentration im Urin:

$$(5) \quad c = 500 \times (E_U + E_{HS}) \text{mg}\%$$

Werden geringe Harnsäurekonzentrationen im Urin erwartet, so können 0,2 ml Urin auf 25 ml mit Puffer-Gebrauchslösung vorverdünnt werden. Aus dieser Verdünnung 1 : 125 ergibt sich dann für die Konzentrationsberechnung der Harnsäure:

$$(6) \quad c = 250 \times (E_U + E_{HS}) \text{mg}\%$$

Die Normalwerte der Serumharnsäurekonzentration nach der Uricase-Methode liegen für Männer zwischen 2,5 und 6,5 $\text{mg}\%$ und für Frauen zwischen 2,0 und 6,0 $\text{mg}\%$.

Von mehreren sowohl mit Serum als auch mit Urin aufgestellten Eichkurven zeigt Abbildung 2 eine mit Hilfe von Serum gewonnene. Die dazugehörigen Meßwerte finden sich in Tabelle 6. Dabei wurde das 1 : 25 vorverdünnte Serum in Zehnerschritten mit Puffer-Gebrauchslösung weiterverdünnt. Eine Zehnfachbestimmung von ein und dem selben Serum zeigt Abbildung 7 mit den Meßwerten in Tabelle 7 und dieselbe Bestimmung mit Urin

zeigen Abbildung 8 und Tabelle 8. Die Harnsäureausscheidung im 24-Stunden-Urin während der Saccharosediät wurde aus der für jeden Tag ermittelten Harnsäurekonzentration und dem Urinvolumen errechnet.

3.5 Bestimmung von Xanthin/Hypoxanthin und Harnsäure

Die mit Hilfe der vorangehend beschriebenen Methoden gewonnenen Ergebnisse der Harnsäureausscheidung unter oraler Fructosebelastung ließen es ratsam erscheinen, auch die unmittelbaren Vorstufen der Harnsäure im Intermediärstoffwechsel, die Oxypurine Xanthin und Hypoxanthin, quantitativ zu erfassen. Für die Bestimmung dieser Purinabbauprodukte sind kolorimetrische⁵⁶, chromatographische¹ und enzymatisch-spektrophotometrische Methoden entwickelt worden. Letztere wurde erstmals von K a l c k a r²² beschrieben und von J o r g e n s e n und P o u l s e n²⁰ sowie P e t e r s e n et al.⁴⁵ zur Bestimmung im Plasma und Urin angewendet.

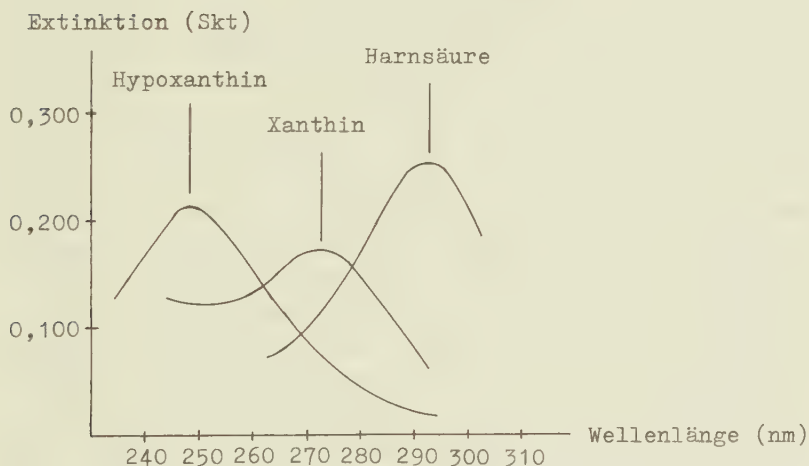
3.5.1 Methoden

K l i n e n b e r g et al.²⁴ veröffentlichten 1967 eine technisch vereinfachte enzymatisch-spektrophotometrische Methode für die gleichzeitige Bestimmung von Xanthin/Hypoxanthin und Harnsäure. Die darin integrierte Ermittlung der Harnsäurekonzentration basiert auf einer von L i d d l e et al.³⁰ beschriebenen Modifikation der Uricase-Methode, die im Folgenden der Einfachheit halber nur noch als Methode Liddle bezeichnet wird. Die kombinierte Methode nach K l i n e n b e r g²⁴ eignet sich sowohl für Bestimmungen im Urin als auch im Plasma. Für die letztere Möglichkeit ist aber wegen der sehr geringen Konzentrationen der Oxypurine vorangehend eine Einengung nötig, wodurch die Genauigkeit der Methode beeinträchtigt wird. Für die vorliegende Arbeit wurde sie nur zur Konzentrationsermittlung der Oxypurine und der Harnsäure im Urin angewendet.

Als Wirkungsprinzip wird das Absorptionsverhalten von Xanthin, Hypoxanthin und Harnsäure bei 292 nm ausgenutzt. Das Extinktionsmaximum für Hypoxanthin liegt bei ca. 248 nm, das für

Xanthin bei ca. 272 nm, während das Maximum für Harnsäure bei 292 nm liegt. Die beiden Oxypurine absorbieren aber auch noch in geringem Umfang Licht der Wellenlänge 292 nm und zwar Xanthin stärker als Hypoxanthin.

ABBILDUNG 22: Absorptionsspektren von Hypoxanthin, Xanthin und Harnsäure bei Konzentration von $20 \mu\text{M/l}$ in 0,06 M Glycylglycin-Puffer, pH = 8,2
Übernommen aus Klinenberg et al.²⁴



Oxidiert man in einer Lösung, die Xanthin, Hypoxanthin und Harnsäure enthält, mit Hilfe des Enzyms Xanthinoxidase Hypoxanthin zu Xanthin und dieses weiter zur Harnsäure, so bewirkt die dadurch verursachte Zunahme der Harnsäurekonzentration eine dazu proportionale Verstärkung der Lichtabsorption bei 292 nm. Gleichzeitig verschwindet aber die vorher bestehende Extinktion vor allem durch Xanthin bei 292 nm, so daß die Absorptionsdifferenz vor und nach Zusatz von Xanthinoxidase direkt gemessen niedriger läge, als der Konzentration der aus Xanthin und Hypoxanthin unter Einwirkung des

Enzyms entstandenen Harnsäure entsprechen würde. Aus diesem Grunde muß die bereits vorher in einer Lösung enthaltene Harnsäure, die sog. präformierte Harnsäure, als erstes bestimmt werden. Dies erfolgt mit einer Modifikation der Uricase-Methode und erfaßt nur die präformierte Harnsäure, da die Uricase streng spezifisch nur die Harnsäure abbaut und der dadurch bedingte Extinktionsabfall also nicht von der Absorption der Oxypurine bei 292 nm beeinflusst wird. Zu einem neuen Ansatz gibt man Xanthinoxidase zu und mißt die dabei entstehende Absorption. Einem weiteren Ansatz setzt man nach Beendigung der Xanthinoxidasereaktion Uricase zu und substrahiert von der Extinktion aus dem Ansatz mit Xanthinoxidase die Absorption aus dem Ansatz mit Xanthinoxidase und Uricase. Die so erhaltene Extinktionsdifferenz ist dann streng proportional der gesamten, d. h. präformierten und aus Xanthin und Hypoxanthin durch Oxidation entstandenen Harnsäure. Substrahiert man nun diese Extinktion der gesamten Harnsäure von der im ersten Bestimmungsschritt ermittelten präformierten Harnsäure, so erhält man die Extinktion, die exakt proportional der Konzentration der aus Xanthin und Hypoxanthin entstandenen Harnsäure ist. Da die Oxidation der Oxypurine zu Harnsäure stöchiometrisch erfolgt, ist die molare Konzentration der aus Xanthin und Hypoxanthin entstandenen Harnsäure gleich der molaren Konzentration von Xanthin und Hypoxanthin. Der Einfachheit halber wurde im Folgenden auch die Konzentration in mg% der aus den Oxypurinen entstandenen Harnsäure gleichgesetzt mit der Konzentration in mg% an Oxypurinen. Die exakte Angabe wäre aber nicht: Xanthin/Hypoxanthin (mg%) bzw. (mg/24 h) sondern: aus Xanthin/Hypoxanthin entstandene Harnsäure (mg%) bzw. (mg/24 h), da Xanthin und Hypoxanthin ein gering differentes Molekulargewicht haben und ihr jeweiliger prozentualer Anteil an der Gesamtmenge nicht bekannt war. Der Grund für die Notwendigkeit, die Oxypurinkonzentration auf oben beschriebenem Umweg zu ermitteln, liegt aber nicht nur im Absorptionsverhalten von Xanthin, Hypoxanthin und Harnsäure, sondern auch in der sehr geringen Substratspezifität des verwendeten Enzyms Xanthinoxidase.

Dieses in der Regel aus Kuhmilch gewonnene Ferment katalysiert auch Reaktionen anderer Purine, von Pyrimidinen, Aldehyden, Pteridinen, von Purinen abgeleiteter Antimetabolite, von Nicotinsäure-Adenin-Dinukleotid, Allopurinol usw. Die Spezifität bei der Bestimmung der Oxypurine nach der beschriebenen Methode wird also nur durch die Verwendung der streng substratspezifischen Uricase erreicht.

Folgende Materialien und Reagenzien wurden für die Ermittlung der Konzentrationen von Oxypurinen und Harnsäure im Urin benötigt:

Xanthin und Hypoxanthin pro Analysisi (E. Merck, Darmstadt)

Harnsäure pro Analysisi (E. Merck, Darmstadt)

Natriumpyrophosphatlösung ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$) als Puffer (0,1 M; pH = 8,0)

Uricase Löwens, 75 U pro Ampulle (Løvens Kemiske Fabrik, Kopenhagen)

Xanthinoxidase aus Kuhmilch, 4 U/ml (Boehringer Mannheim GmbH)

Reagenzgläser mit Ständer

Meßkolben für 100 ml und 10 ml

Vollpipetten mit 3 ml, 2 ml und 0,01 ml Kapazität (am besten Mikropipetten)

4 - 5 Quarzküvetten mit 1 cm Schichtdicke und über 3 cm³

Fassungsvermögen

Spektralphotometer mit Meßbereichsmöglichkeit bei 292 nm, z.B.

BECKMAN DU Spektralphotometer

evtl. Parafilm zum Durchschütteln der Bestimmungsansätze in den Reagenzgläsern

Für die Bestimmung der Oxypurin- und Harnsäurekonzentration einer Probe benötigt man 4 und bei Doppelbestimmung also 8 Reagenzgläser. Die zu untersuchende Lösung wird je nach den in etwa zu erwartenden Konzentrationen der gesuchten Substanzen und je nach der Grundextinktion, die sie gegen Aqua bid. aufweist, von 1 : 50 bis 1 : 200 vorverdünnt. Beim Gesunden liegt die Oxypurinausscheidung ca. eine Zehnerpotenz niedriger als die der Harnsäure und es erscheint somit zweckmäßig, eine möglichst niedrige Verdünnung zu wählen. Andererseits

ergeben sich damit hohe Extinktionen durch die präformierte Harnsäure und hohe Grundextinktionen des Urins, wenn man, was bei vorliegender Methode unumgänglich ist, als Leerwert eine Küvette mit Aqua bid. nimmt. Um dadurch nicht in Absorptionsbereiche zu kommen, in denen beim verwendeten Spektralphotometer nur noch Ablesungen in Schritten von 0,005 möglich wären, wurde für Urin die mittlere Verdünnung von 1 : 100 gewählt, indem 1 ml des unter 3.3 auf 1 : 10 vorverdünnten Urins in einem 10 ml-Meßkolben mit Aqua bid. bis zur Markierung aufgefüllt wurde. Zur Bestimmung der präformierten Harnsäure nach der Methode von L i d d l e²² pipettiert man in Reagenzglas I 2 ml Natriumpyrophosphat-Puffer und 1 ml verdünnten Urin und in Reagenzglas II 2 ml Natriumpyrophosphat-Puffer, 1 ml verdünnten Urin und 0,01 ml Uricaselösung. Für die Oxy-purinbestimmung pipettiert man in Reagenzglas III 2 ml Natriumpyrophosphat-Puffer, 1 ml verdünnten Urin und 0,01 ml Xanthinoxidaselösung und in Reagenzglas IV 2 ml Natriumpyrophosphat-Puffer, 1 ml verdünnten Urin, 0,01 ml Xanthinoxidaselösung, schüttelt gut durch, läßt die Xanthinoxidasereaktion ablaufen (ca. 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehenlassen) und gibt anschließend 0,01 ml Uricaselösung zu. Alle Ansätze werden unter Verwendung von Parafilm intensiv durchmischt. Die Uricasereaktion ist nach ca. 30 Minuten bei Zimmertemperatur abgelaufen. Diese Zeit und die für die Reaktion der Xanthinoxidase ergaben sich aus der Zeit-Wirkungskurve der Abbildung 10 mit den korrespondierenden Meßwerten in Tabelle 12, die mit Hilfe einer 1 : 50 vorverdünnten Lösung aus 100 mg Harnsäure und 30 mg Xanthin/Hypoxanthin in 0,01 n Natronlauge von 100 ml aufgestellt wurde. Die Extinktionsablesung der Ansätze erfolgte dann an einem BECKMAN DU Spektralphotometer mit Wasserstofflampe bei 292 nm und unter Verwendung von Quarzküvetten mit 1 cm Schichtdicke. Zur Nullpunkteistellung wurde eine Küvette mit Aqua bid. verwendet. Die zur Konzentration der präformierten Harnsäure proportionale Extinktion ergibt sich durch Subtraktion der Extinktion von Ansatz in Reagenzglas I und Reagenzglas II. Die Differenz der Extinktion der Ansätze in Rea-

genzglas III und IV entsprechen der Konzentration der gesamten, d. h. präformierten und aus Xanthin und Hypoxanthin entstandenen Harnsäure. Somit ermittelt sich die zur Konzentration der Oxypurine proportionale Extinktion als Differenz der Extinktion für die gesamte Harnsäure von der der präformierten Harnsäure:

$$(1) \Delta^E_{\text{Oxypurine}} = \Delta^E_{\text{Harnsäure ges.}} - \Delta^E_{\text{Harnsäure präf.}}$$

Für die Konzentrationsberechnungen bleiben die Eigenextinktionen der in den Ansätzen verwendeten Enzymlösungen unberücksichtigt, da zahlreiche Bestimmungen mit 3 ml Natrium-pyrophosphat-Puffer und 0,01 ml Uricaselösung bzw. Xanthinoxidaselösung gegen 3 ml Puffer als Leerwert nur Extinktionen zwischen + 0,002 und - 0,001 ergaben, diese also im Bereich des Ablesefehlers lagen. Unter Verwendung des spezifischen Absorptionsindex für Harnsäure von 0,0745 $\mu\text{g/ml}$ und unter Berücksichtigung der Urinverdünnung von 1 : 100 und der Urinverdünnung im Ansatz von 1 : 3,01 (1 ml verdünnter Urin in 3,01 ml Ansatz) ergibt sich für die Berechnung:

$$c_{\text{Harnsäure präf.}} = \frac{\Delta^E_{\text{Harnsäure präf.}}}{0,0745} \times 301 \text{ } (\mu\text{g/ml})$$

$$\text{bzw.: } (2) \quad c_{\text{HS präf.}} = \frac{\Delta^E_{\text{HS präf.}}}{0,0745} \times 30,1 \text{ (mg/100 ml)}$$

$$\text{Analog gilt: } (3) \quad c_{\text{HS ges.}} = \frac{\Delta^E_{\text{HS ges.}}}{0,0745} \times 30,2 \text{ (mg\%)}$$

$$\text{und } (4) \quad c_{\text{Oxypurine}} = \frac{\Delta^E_{\text{Oxypurine}}}{0,0745} \times 30,2 \text{ (mg\%)}$$

In Gleichung (3) und (4) wird mit 100 x 3,02 anstatt mit 100 x 3,01 multipliziert, weil hier im Bestimmungsansatz die Urinverdünnung 1 : 3,02 beträgt (1 ml verdünnter Urin + 2 ml Puffer- + 0,01 ml Xanthinoxidase- + 0,01 ml Uricaselösung).

K l i n e n b e r g²⁴ gibt die Verwendung eines Uricase-Präparats der Firma Worthington Biochemical Company, Freehold, N. J. mit 0,75 U/ml und eines Xanthinoxidase-Präparats desselben Herstellers mit 9 U/ml an. Ein Arbeiten mit einer Kon-

zentration von 0,75 U/ml des mir zur Verfügung stehenden Uricase-Präparats, Uricase Löwens (Löwens Kemische Fabrik, Kopenhagen) erwies sich als unmöglich. Erst bei Zugabe von 0,01 ml Uricaselösung der Aktivität 75 U/ml, also eine Uricase-Tablette mit 75 U in 1 ml Natriumpyrophosphat-Puffer gelöst, zum Bestimmungsansatz wurde die einer Lösung zugesetzte Harnsäuremenge nach einer Reaktionszeit von ca. 30 - 35 Minuten quantitativ wiedergefunden. Dagegen erwies sich die Aktivität der Xanthinoxidase der Firma Boehringer Mannheim GmbH noch bei einer Konzentration von 4 U/ml als unnötig hoch, so daß eine Konzentration von 0,4 U/ml verwendet wurde. Eine Menge von 0,01 ml der Xanthinoxidaselösung dieser Konzentration oxidierte eine 30 mg%ige Oxypurinlösung, die zusätzlich 100 mg% Harnsäure enthielt und 1 : 50 vorverdünnt war, nach oben beschriebener Methode innerhalb von maximal 15 Minuten. Als Lösungsmittel für die Herstellung so hoch konzentrierter Harnsäurelösungen wurde 0,01 n Natronlauge verwendet, da die Löslichkeit der Harnsäure in Wasser von 37° C nach G u d z e n t¹⁷ nur etwa 64,9 mg/l beträgt und erst in alkalischem Milieu rasch ansteigt. Die so bereitete Lösung muß aber unmittelbar im Anschluß an ihre Herstellung sofort analysiert werden, um die im alkalischen Milieu auftretende Spontanoxidation der Harnsäure möglichst gering zu halten. Vor den Extinktionsablesungen müssen die vier dafür benötigten Küvetten, die ein und demselben Satz angehören sollten, in ihrer Eigenextinktion exakt gegeneinander abgeglichen und eventuelle Differenzen durch entsprechende Additionen bzw. Subtraktionen egalisiert werden, weil die sich im Urin gesunder Personen ergebenden Extinktionswerte für die Oxypurine in der Regel ohnehin relativ gering sind. Abbildung 3 zeigt eine Eichkurve, die mit Hilfe einer Lösung von 50 mg Harnsäure und 15 mg Xanthin/Hypoxanthin in 100 ml 0,01 n Natronlauge bei Vorverdünnung von 1 : 100 aufgestellt wurde. Bis zur Verdünnung 5 : 10 wurden in Schritten von $\frac{1}{10}$ jeweils gleiche Teile der Oxypurin- und Harnsäurelösung mit Aqua bid. bis auf 10 Teile verdünnt. Ab der Verdünnung 5 : 10 wurde zur Oxypurinlösung nur noch Aqua bid. zugesetzt. Die zur Abbildung 3 gehörigen Meßwerte finden sich in Tabelle 9.

Eine Zehnfachbestimmung von Xanthin/Hypoxanthin und Harnsäure in einer eingewogenen Lösung zeigen Abbildung 4 und Tabelle 10. Selbstverständlich wurden für die Konzentrationsbestimmungen der Oxypurine und der Harnsäure im Urin der Versuchsperiode mit Saccharosediät Doppelbestimmungen durchgeführt. Unter Verwendung der Harnvolumina pro 24-Stunden-Sammelperiode wurde die Ausscheidung der Substanzen in mg/24 h berechnet.

4.0 Ergebnisse

4.1 Harnsäureausscheidung

4.1.1 Methode Urica quant^R

Die Ergebnisse der Bestimmung der renalen Harnsäureausscheidung unter der neuntägigen Saccharosediät sowie an den letzten beiden Tagen der vorausgehenden und den beiden ersten der darauffolgenden Dextrosindiät zeigen Tabelle 13 und die Abbildungen 11 und 12 (Mittelwerte mit je 6 bzw. 5 Einzelwerten). Für den Mittelwert $\bar{x}_{1-6}$ zeigt sich dabei am ersten Tag der Saccharosediät im Vergleich zu den vorangehenden letzten beiden Tagen mit Dextrosindiät ein Anstieg der Harnsäureausscheidung von ca. 155 mg, das entspricht ungefähr 47 %. Dann erfolgt ein relativ rascher Abfall, der am 3. Tag der Saccharosediät mit einem Wert, der um ca. 50 mg unter dem Ausgangsniveau der letzten Tage der Dextrosinperiode liegt, seinen absoluten Tiefpunkt erreicht. Anschließend läßt sich wieder ein zwar langsamer aber stetiger Anstieg erkennen, der um den 6. oder 7. Tag der Saccharoseperiode ein zweites, um ca. 50 mg entsprechend etwa 15 % über dem Dextrosinniveau liegendes Maximum aufweist. Dem sich bis zum Ende der Saccharoseperiode anschließenden mäßigen Abfall folgt am ersten Tag der nächsten Dextrosinperiode ein sprunghafter Anstieg bis zu einem Wert, der nur um 30 mg oder ca. 6 % unter dem absoluten Höchstwert am ersten Tag der Saccharosediät liegt. Da diese Steigerung der Harnsäureausscheidung aber in erster Linie durch den exzessiv hohen Anstieg bei Versuchsperson 6 auf 1079 mg zustande kam und auch an

anderen Tagen deren Ausscheidungswerte zum Teil ungewöhnlich stark von denen der anderen Versuchspersonen abzuweichen schien, wurden auch die Mittelwerte $\bar{x}_{1-5}$ errechnet und in Abbildung 12 graphisch dargestellt. Es zeigte sich aber dann bis auf das Verschwinden des Maximums am ersten Tag der zweiten Dextrosinperiode - an seine Stelle trat ein mäßiger Anstieg, der sich am zweiten Tag noch steigerte - keine wesentliche Veränderung zu den Mittelwerten $\bar{x}_{1-6}$. Der Gipfel am ersten Tag der Saccharoseperiode lag jetzt nur noch knapp 40 % über dem Ausgangsniveau und das zweite kleinere Maximum verschob sich um einen Tag vom 28. 6. auf den 29. 6. Zu Beginn der zweiten Dextrosindiät war nur noch ein Anstieg zu verzeichnen, der nicht mehr an den Gipfel vom 23. 6. heranreichte. Betrachtet man die Veränderung der Harnsäureausscheidung über den untersuchten Zeitraum für die einzelnen Versuchspersonen getrennt, so zeigt sich allerdings keine eindeutige Tendenz. Nur für Versuchsperson 3 und 6 steigt am ersten Tag der Saccharosediat die Harnsäureausscheidung auffallend stark an, während die Probanden 1, 2, 4 und 5 ungefähr im Niveau der vorangehenden Dextrosindiät bleiben. Dagegen ist das Ausscheidungsminimum am 3. bzw. 4. Tag der Saccharosediat mit Ausnahme von Proband 4 bei sonst allen Versuchspersonen zu beobachten - nur eben bei dem einen um einen Tag später als beim anderen. Deutlich ausgeprägt zeigt sich nur bei den Versuchspersonen 1, 2 und 3 das zweite, niedrigere Maximum um den 7. Tag der Saccharosediat während bei den Probanden 4 und 5 keine Veränderung zu erkennen ist und sich für Proband 6 eher ein Abfall der Harnsäureausscheidung abzeichnet. Bis zum Ende der Saccharosediat fällt die Ausscheidung der Harnsäure der Versuchspersonen 1, 2, 3, 5 und 6 mehr oder weniger stark ab, um zu Beginn der zweiten Dextrosinperiode bei den Probanden 2 und 6 sehr auffallend, bei Nr. 1 geringfügig wieder anzusteigen und bei Nr. 3 und 4 leicht abzufallen während Proband 5 sich kaum verändert zeigt.

4.1.2 Uricase-Methode

Eine graphische Darstellung der Ergebnisse findet sich in den Abbildungen 13 und 14; die Meßwerte sind in Tabelle 14 zusammen-

mengestellt. Die Untersuchung der Harnsäureausscheidung unter purinhaltiger Normalkost am 5. 6., 20. 7. und 21. 7. weist Werte auf, die ungefähr doppelt so hoch liegen wie die unter der purinfreien Dextrosin- bzw. Saccharosediät. Im übrigen stimmen die Mittelwerte für alle 6 Versuchspersonen während der Saccharosediät mit den mit Hilfe der Methode Urica quant^R gewonnenen ziemlich überein. Es läßt sich nur eine Parallelverschiebung zu um ca. 10 % höheren Werten erkennen. Sowohl das Maximum am ersten Tag der Saccharoseperiode, der Tiefpunkt um den 3. bzw. 4. Tag, ein erneuter Anstieg mit Höhepunkt um den 28. 6./29. 6. sowie ein weiterer Anstieg am ersten Tag der zweiten Dextrosinperiode nach vorangegangenen, leichten Abfall zeichnen sich ab. Nach Eliminierung von Versuchsperson 6 in Abbildung 14 ergeben die Mittelwerte $\bar{x}_{1-5}$ gute Übereinstimmung mit den entsprechenden Ergebnissen der Abbildung 12 mit Parallelverschiebung zu ungefähr 5 - 10 % höheren Werten in 9 und zu etwas niederen Werten in 4 Fällen. Die Tendenz der Probanden im einzelnen ist kaum einheitlicher als bei der vorangehenden Methode. Bei allen zeigt sich aber deutlich das Maximum am ersten Tag der Saccharosediät und bei den meisten auch der kleinere Gipfel um den 28. 6./29. 6.

4.1.3 Methode Liddle

Abbildung 15 und 16 zusammen mit Tabelle 15 zeigen die Ergebnisse der mit dieser Methode gewonnenen Harnsäureausscheidungswerte. Diese liegen für $\bar{x}_{1-6}$ an 10 Tagen nur ganz knapp unter denen der Uricase-Methode. Für die übrigen 3 Tage (26. 6., 1. 7. und 2. 7.) lassen sich größere Differenzen feststellen. Als einziger Unterschied in der Gesamttendenz ist der Tiefpunkt vom 3. Tag der Saccharosediät deutlicher auf den 4. Tag verschoben, als dies im Vergleich der Uricase-Methode mit der Methode Urica quant^R zu erkennen war. Die Mittelwerte ohne Versuchsperson 6 ($\bar{x}_{1-5}$) weichen nur geringfügig und zwar bis maximal 10 % von denen ab, die mit der Uricase-Methode gewonnen wurden. Allerdings ist eine Erniedrigung des Maximums am ersten Tag der Saccharosediät bis auf einen Wert festzustellen, der dem des zweiten Gipfels am 7. Tag etwa

gleichkommt und der Anstieg zu Beginn der zweiten Dextrosindiät erscheint weniger stark ausgeprägt. Im einzelnen läßt sich diesmal nur noch bei den Probanden 1, 3 und 6 ein deutliches und bei Proband 4 ein geringes Ansteigen am ersten Saccharosetag erkennen, während die Probanden 2 und 5 erst am 2. Tag einen leichten Anstieg verzeichnen. Mit Ausnahme von Versuchsperson 5 fällt daran anschließend die Harnsäureausscheidung bei allen bis zum tiefsten Wert um den 3. bzw. 4. Tag der Saccharosediät wieder ab, um bis zum 6. bzw. 7. Tag zu einem neuen Maximum anzusteigen. Der Abfall zum Ende der Saccharoseperiode ist wiederum mit Ausnahme von Versuchsperson 5 allgemein und das Ansteigen zu Beginn der zweiten Dextrosinperiode nur noch gering bei Proband 2 und 6 zu erkennen, während bei den anderen die Ausscheidungswerte für Harnsäure etwa gleich hoch bleiben bzw. sogar abnehmen (Versuchsperson 3).

4.1.4 Vergleich der Methoden für die Harnsäurebestimmung

In den Abbildungen 19, 20 und 21 wurde die Übereinstimmung von jeweils zwei der drei für die Ermittlung der renalen Harnsäureausscheidung benutzten Methoden graphisch dargestellt. Die Punkte stellen die Harnsäureausscheidungsmengen aller Versuchspersonen an allen untersuchten Tagen dar. Sie müßten im Idealfall, d. h. bei absoluter Korrelation zweier Methoden, auf den eingezeichneten 45° - Diagonalen liegen. Zwischen der Uricase-Methode und der Methode Liddle zeigt sich in Abbildung 20 die beste Übereinstimmung mit nur 4 größeren Abweichungen von 78 Werten, das entspricht ca. 5 %. Dies erscheint auch nicht weiter verwunderlich, da es sich ja nur um zwei verschiedene Modifikationen ein und derselben Methode handelt. Stärkere Divergenzen ergeben sich im Vergleich der Methode Urica quant^R mit den beiden vorgenannten in Abbildung 19 bzw. 21, was durchaus verständlich ist, wenn man bedenkt, daß es sich dabei um zwei verschiedene Wirkungsprinzipien handelt. Während bei der einen die Extinktion eines erst durch zwei weitere Reaktionsschritte nach der Uricase-reaktion entstandenen Farbkomplexes gemessen wird, registriert man bei den anderen beiden den Extinktionsabfall, der direkt

durch die Einwirkung der Uricase verursacht wird. Auch die Doppelbestimmungen, die für die Konzentrationsermittlungen durchgeführt wurden, zeigten bei der Uricase-Methode und der Methode Liddle durchwegs bessere Übereinstimmung als bei der Methode Urica quant^R. Die dabei auftretenden Abweichungen der Extinktion lagen bei den ersten beiden kaum jemals über Werten von 0,003, wohingegen bei der letzten Methode Differenzen von 0,005 - 0,010 keine Seltenheit waren.

4.2 Ausscheidung von Xanthin/Hypoxanthin

Abbildung 17 zeigt die renale Oxyपुरinausscheidung für alle Versuchspersonen während des untersuchten Zeitraums. Das Verhalten der Werte von Proband 6 ließ es auch diesmal angezeigt erscheinen, die Veränderung der Mittelwerte der ersten fünf Versuchspersonen isoliert zu betrachten, was in Abbildung 18 geschah. In Tabelle 16 wurden die ermittelten Oxyपुरinmengen pro 24 Stunden zusammengestellt.

Wie in 3.5.1 bereits angedeutet, birgt die Bestimmungsmethode der Oxyपुरine auf Konzentrationsermittlungen im Urin gesunder Versuchspersonen angewendet nicht unerhebliche Schwierigkeiten in sich. Von gesunden Personen werden nämlich nur 24-Stunden-Mengen von Xanthin und Hypoxanthin ausgeschieden, die im allgemeinen um eine Zehnerpotenz niedriger liegen als die der Harnsäure. Daraus ergibt sich auch eine um eine Zehnerpotenz geringere Konzentration im zu untersuchenden Urin. Die naheliegende Konsequenz, eine möglichst geringe Verdünnung anzuwenden, läßt sich nur bis zu einem gewissen Grad ausführen, nämlich soweit, bis die dadurch bedingte Grundextinktion des Urins, die vor allem von der etwa zehnfach höheren Harnsäurekonzentration herrührt, keine genauen Absorptionsmessungen mehr zuläßt. Auch die Tatsache, daß die der Oxyपुरinkonzentration proportionale Extinktion nur indirekt über die Subtraktion der Extinktion für die präformierte von der für die gesamte Harnsäure ermittelt werden kann, führt zu Schwierigkeiten. Wenn sich z. B. die Ablesefehler der beiden Absorptionswerte zueinander gegensinnig bewegen, so verringern sich die ohnehin niedrigen Extinktionsdifferenzen prozentual erheblich und werden nicht selten gleich Null. Noch so geringe Abweichungen



der Eigenextinktion der verwendeten Küvetten - sie lassen sich trotz gewissenhafter Abgleichung nicht immer ganz vermeiden - und auch nur geringste Verschmutzungen derselben gehen ebenfalls als hoher prozentualer Fehler in die Konzentrationsberechnung mit ein. Ein Großteil der ermittelten Extinktionen für Xanthin/Hypoxanthin bewegte sich so gesehen im Meßfehlerbereich und eine Interpretation der erhaltenen Ausscheidungsmengen ist daher nur mit entsprechenden Vorbehalten möglich. Trotzdem scheinen die Mittelwerte aller Versuchspersonen eine Ähnlichkeit mit denen der Harnsäureausscheidung aufzuweisen. Die dort beobachteten Charakteristika finden sich auch hier: Anstieg am 23. 6., anschließender Abfall mit Minimum am 25. 6., erneuter Anstieg bis zum Maximum am 28. 6., darauffolgender weiterer Abfall bis zum Ende der Saccharosediät und erneuter mäßiger Anstieg zu Beginn der zweiten Dextrosinperiode. Klammert man allerdings Versuchsperson 6 aus der Betrachtung aus, so fällt der Anstieg am 23. 6. weg, der Tiefpunkt verschiebt sich vom 25. 6. auf den 26. 6. und das Maximum vom 28. 6. auf den 29. 6., während sich für die übrigen Tage ein im wesentlichen identisches Verhalten zeigt. Noch uneinheitlicher als bei der Harnsäureausscheidung verhalten sich die einzelnen Versuchspersonen im Bezug auf die renale Oxyapurinausscheidung, so daß eine entsprechende genauere Analyse wenig sinnvoll erscheint.

5.0 Diskussion

Verschiedene Arbeitsgruppen haben die Auswirkungen von parenteralen Infusionsbehandlungen auf den Serumharnsäurespiegel und auf die renale Ausscheidung von Harnsäure und Oxyapurinen untersucht. So fanden Gibson und Doisy¹⁵, daß es nach Gabe von 10 - 14 g Natriumlaktat zu einer Verminderung der Harnsäureausscheidung durch die Nieren mit konsekutivem Anstieg des Serumharnsäurespiegels kommt. Burck und Kurke⁴ infundierten gesunden Versuchspersonen während einer 60-Minuten-Periode 1000 ml 1,75 %ige razemische Natriumlaktatlösung intravenös und konnten dabei eine beträchtliche

Verminderung der Harnsäureclearance bei gleichzeitiger Zunahme der Plasmaharnsäurekonzentration feststellen. Als Ursache dieses Effekts wird allgemein angenommen, daß Laktat über eine Hemmung der tubulären Sekretion harnsäureretinierend wirkt, obwohl die pro Zeiteinheit aktiv sezernierte Uratmenge von beträchtlicher Größenordnung ist⁴⁰. Für den Anstieg des Serumharnsäurespiegels nach Zufuhr von Äthylalkohol⁴⁷ scheint ebenfalls eine, durch die Alkoholoxidation bedingte, Hyperlaktämie verantwortlich zu sein⁵¹. Allerdings nimmt der Serumlaktatspiegel bei zugeführten Äthanolmengen unter 100 g innerhalb von 4 Stunden normalerweise nicht so stark zu, wie es für eine Hemmung der renalen Uratelimination notwendig wäre³². Die Alkoholoxidation zu Acetaldehyd und weiter zu Acetat führt zur Reduktion großer Mengen von NAD (Nikotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid) zu NADH₂. Durch diesen Anstieg von NADH₂ wird das Gleichgewicht aller NAD/NADH₂-abhängigen Reaktionen gestört und für die Oxidation des im Rahmen des normalen Intermediärstoffwechsels anfallenden Laktats steht NAD nicht mehr in ausreichendem Umfang zur Verfügung, so daß daraus ein Anstieg des Serumlaktatspiegels resultiert. Für die Einschleußung der Milchsäure in den Citrat-Zyklus oder den Cori-Zyklus - beide Stoffwechselprozesse laufen in der Leber ab - ist nämlich die vorherige Oxidation von Laktat zu Pyruvat mit Hilfe von NAD und Laktatdehydrogenase notwendig.

Während intravenöser Infusion von 5 ml/Min. einer 10 %igen Xylitlösung steigt die Serumharnsäurekonzentration bei jungen gesunden Versuchspersonen beiderlei Geschlechts um etwa 30 % über das Ausgangsniveau an und bleibt nach 100 Minuten langer Infusion in einer Nachbeobachtungsperiode von weiteren 140 Minuten erhöht³⁷. Dabei läßt sich keine zeitliche Parallelität zwischen Veränderungen der Serumharnsäurewerte und dem Blutlaktatspiegel nachweisen. Ähnliche Beobachtungen machten H e u c k e n k a m p und Z ö l l n e r¹⁸ bei gesunden Personen, denen sie 0,5 g Xylit pro kg Körpergewicht und Stunde über einen mehrstündigen Zeitraum infundierten. Auch hochdosierte Infusionen von Sorbit und Fructose, anderen Zucker-

austauschstoffen, führen zur Harnsäureerhöhung im Serum¹⁰; nicht dagegen die parenterale Applikation von Glucose oder Galaktose. Den Mechanismus, der dem Anstieg des Serumharnsäurespiegels und der Ausscheidung von Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin durch die Niere bei rascher Infusion von Fructose zugrunde liegt, haben Fox und Kelley¹⁴ genauer untersucht. Dabei galt es zu klären, ob die Zunahme der Blutharnsäure durch den gleichzeitigen Anstieg des Serumlaktatspiegels mit daraus resultierender Hemmung der tubulären Reabsorption von Harnsäure bedingt ist. Die Veränderung dieser beiden Parameter hatten auch Perheentupa und Raivio⁴⁴ sowie Förster und Mitarbeiter¹¹ festgestellt. Bergström und Mitarbeiter² zeigten, daß das Ausmaß des Milchsäureanstiegs in direkter Beziehung zur Infusionsgeschwindigkeit steht und daß bei einer Infusionsgeschwindigkeit von 1 g pro kg Körpergewicht und Stunde oder darüber die Laktatkonzentration im Blut um 5 mval/l anstieg. Nun führt zwar eine Hyperlaktatazidämie beim gesunden Menschen zu einer Abnahme der renalen Harnsäureelimination ohne Veränderung der Clearancewerte von Inulin und Paraaminohippursäure (PAH)⁵⁷; der nach hochdosierter rascher Infusion von Fructose (1,5 g pro kg Körpergewicht innerhalb von 20 Minuten) auftretende Anstieg der Serumharnsäurekonzentration ist aber, wie Mehnert und Förster³⁴ nachwiesen, durch Allopurinol hemmbar. Fox und Kelley¹⁴ fanden nun zusätzlich, daß unmittelbar im Anschluß an eine rasche parenterale Infusion von 0,5 g Fructose pro kg Körpergewicht bei Patienten mit manifester Gicht auch die renale Ausscheidungsrate für Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin anstieg und gleichzeitig die Konzentration an Erythrozyten-Phosphoribosylpyrophosphat und Ribose-5-phosphat leicht abnahm, während kein Effekt auf die ATP-Konzentration in den Erythrozyten, auf die gesamten reduzierenden Substanzen sowie auf Glucose und Phosphat zu beobachten war. Als theoretische Erklärungsmöglichkeit für den Anstieg des Harnsäurespiegels im Serum nach Zufuhr von Fructose geben die oben zitierten Autoren vier verschiedene Mechanismen an:

1. Eine Verschiebung im Harnsäurepool oder eine verminderte extrarenale Verfügbarkeit der Harnsäure, die zu einem Anstieg der Filtration führt.
2. Eine Abnahme der renalen Clearance der Harnsäure (evtl. durch die begleitende Hyperlaktatämie bedingt).
3. Ein Anstieg der De-novo-Synthese von Purinen.
4. Ein beschleunigter Abbau von Purinnukleotiden.

Die Erhöhung der Oxypurine im Urin und die Verhinderung der fructoseinduzierten Hyperurikämie durch vorherige Allopurinolgabe schlossen eine Verschiebung im Harnsäurepool oder eine Veränderung der extrarenalen Verfügbarkeit der Harnsäure als Erklärung für den abrupten Anstieg der Plasmaharnsäure aus. Eine Abnahme der fraktionierten renalen Harnsäureclearance war experimentell nicht festzustellen. Bei einem Anstieg der De-novo-Synthese von Purinen hätte die Konzentration von Ribose-5-phosphat und Phosphoribosylpyrophosphat, direkten Vorstufen der Synthese von Purinnukleotiden, bei unveränderter ATP-Konzentration erhöht und nicht erniedrigt gefunden werden müssen. Außerdem läßt sich auch bei Patienten mit hereditärer Fructoseintoleranz, bei denen ein genetischer Block im weiteren Stoffwechsel des Fructose-1-phosphat vorliegt, durch Fructoseinfusionen eine Hyperurikämie induzieren. Auch die Tatsache, daß der stärkste bekannte Stimulator der Harnsäureneubildung, das 2-Äthylamino-1,3,4-thiadiazol, erst nach 24 bis 48 Stunden zu einem Harnsäureanstieg führt²⁵, während bereits 30 bis 45 min. nach Beginn einer Fructoseinfusion eine Hyperurikämie zu beobachten ist, sprechen gegen die Steigerung der Purin-De-novo-Synthese als zugrunde liegendem biochemischen Mechanismus. Als wahrscheinlichste Ursache des Anstiegs der Blutharnsäure und der erhöhten Ausscheidung von Harnsäure und Oxypurinen durch die Niere nehmen Fox und Kelley¹⁴ daher einen gesteigerten Abbau von Purinnukleotiden an. Diese These kann aber nicht auf die durch Xylit induzierte Hyperurikämie, die noch rascher auftritt als diejenige nach Fructose, übertragen werden. Xylit beschleunigt nämlich den Katabolismus der Purinnukleotide nicht^{33, 48}.

Der wenige Minuten nach Infusionsbeginn einsetzende prompte Anstieg der Serumharnsäure ist von der in der Zeiteinheit infundierten Menge an Sorbit, Fructose oder Xylit abhängig^{19, 52}, wobei letzteres sich als am wirksamsten erweist. Es steigert die Blutharnsäurekonzentration wesentlich stärker als Sorbit und Fructose und bereits bei Zufuhrdaten, bei denen die beiden anderen Kohlenhydrate noch keine Beeinflussung des Harnsäurespiegels erkennen lassen. Eine Veränderung der Serumkonzentration an anorganischem Phosphat zeigt sich nur bei länger dauernden Infusionsbehandlungen. Spiegelbildlich zum Anstieg der Harnsäure fällt die Phosphatkonzentration bis 30 Min. nach Beendigung einer 100 Min. dauernden Xylitinfusion von 5 ml/Min. einer 10 %igen Lösung nach M e r t z und Mitarbeiter³⁷ gegenüber den Kontrollen ab, um sich anschließend wieder zu normalisieren. Dieser Effekt läßt sich unter mehrstündigen Infusionen von Fructose ebenfalls beobachten, nicht dagegen bei kurzdauernden, die man mit hoher Geschwindigkeit einlaufen läßt¹⁴. Dieser Phosphatabfall ist wahrscheinlich durch die temporäre Fixierung von anorganischem Phosphat an Metabolite der zugeführten Kohlenhydrate zu erklären. Eine zur Aufrechterhaltung der Homöostase einsetzende reaktive Freisetzung von Phosphat aus anderen Stoffwechselzwischenprodukten könnte zur späteren Normalisierung der Serumphosphatkonzentration führen. Auch orale Verabreichung verschiedener Substanzen kann den Harnsäurespiegel beeinflussen. Um eine solche nahrungsbedingte Veränderung objektivieren zu können, muß vorher durch eine purinfreie Kost, von der bekannt ist, daß sie keinen Effekt auf den Stoffwechsel und die Ausscheidung der Harnsäure ausübt, der minimale Harnsäurespiegel und die minimale Ausscheidungsmenge ermittelt werden. Dabei darf der Kaloriengehalt der verabreichten Diät nur so gering wie möglich vom tatsächlichen Bedarf der Versuchsperson abweichen, weil die durch ein Kaloriendefizit bedingte Ketose zu einer Verminderung der renalen Harnsäureclearance führt^{9, 27, 28, 39, 41}, und auch ein evtl. durch das Hungern verstärkter Purin- und Proteinkatabolismus die gesuchte sog. endogene Uratquote verfälschen würde. Die unter

diesen Bedingungen ausgeschiedene Harnsäuremenge liegt zwischen 300 und 500 mg täglich^{3, 5, 6, 7}. Unter der oralen Zufuhr von Nukleinsäuren in Dosen bis zu 4 g Ribonukleinsäure pro Tag fanden G r i e b s c h und Mitarbeiter¹⁶ eine dosisabhängige Zunahme der Serumharnsäurekonzentration und der Harnsäureelimination. Durchschnittlich erhöhte sich der Blutspiegel um 55 % und erreichte bereits am zweiten Tag pathologische Werte. Ähnliche Ergebnisse veröffentlichten andere Arbeitsgruppen^{43, 51, 55}. Da es sich bei den verabreichten Nukleinsäuren um direkte Vorstufen der Harnsäure handelt, ist die durch sie bedingte Erhöhung der Harnsäure im Blut und Urin durchaus erklärlich.

Über eine Veränderung des Harnsäurespiegels durch peroral verabreichte Kohlenhydrate liegen bisher noch wenig Arbeiten vor. F ö r s t e r und Z i e g e¹² beobachteten 30 Min. nach oraler Gabe von 50 g Xylit in 400 ml Leitungswasser einen signifikanten Anstieg der Serumharnsäurekonzentration um 0,5 bis 2,5 mg%, der bis 4 Stunden nach der Zufuhr anhielt. Geringere Steigerungen ergaben sich hier ähnlich wie bei den Infusionsbehandlungen für oral appliziertes Sorbit, für Fructose und Saccharose, während Glucose und Galaktose keinen vergleichbaren hyperurikämisierenden Effekt zeigten¹³. Im Gegensatz zu diesen akuten Experimenten konnten M e r t z und Mitarbeiter³⁸ im Verlauf einer zweiwöchigen Verabreichung von 50 g Xylit per os pro Tag unter Konstanterhaltung des Körpergewichts der Versuchspersonen keine Veränderung der Plasmaharnsäurekonzentration feststellen. Die zitierten Autoren nehmen als Begründung dafür an, daß sich der harnsäuresteigernde Effekt des tagsüber aufgenommenen Xylit über Nacht wieder ausgleicht und deshalb im morgens nüchtern abgenommenen Serum nicht mehr in Erscheinung tritt. Das Verhalten der Ausscheidung von Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin durch die Nieren gesunder Versuchspersonen während einer mittelfristigen peroralen Aufnahme von Saccharose sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Folgende Faktoren könnten für die nicht eindeutige Tendenz der unter 4.1 und 4.2 beschriebenen Ergebnisse verantwort-

lich sein:

1. Die zugeführte Menge der hyperurikämisierenden Fructose, die nach Spaltung des Disaccharids Saccharose im Darm resorbiert wurde, war zu gering.
2. Durch das langsame, über den ganzen Tag verteilte Anfluten der Fructose wurde kein so hoher Serumfructosespiegel erreicht, wie er für eine Stimulation des Purinkatabolismus nötig gewesen wäre.
3. Der harnsäuresteigernde Effekt der tagsüber aufgenommenen Fructose wurde während der Nacht ausgeglichen.
4. Der Anstieg des Serumharnsäurespiegels war so gering, daß er sich nicht in einer vermehrten Ausscheidung niederschlug.
5. Eine unmittelbar nach jeder Saccharosezufuhr auftretende Mehrausscheidung von Harnsäure über die Nieren wurde nicht erfaßt, da sie sich im Volumen einer 24-Stunden-Urinsammelperiode egalisierte.

Analoges gilt für die direkten Vorstufen der Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin. Außerdem sei dabei nochmals an die unter 3.5.1 erwähnte Problematik der Oxypurinbestimmung nach der Methode von **K l i n e n b e r g** et al.²⁴ erinnert. Ein Fehler in der Bestimmungsmethodik der Harnsäure scheint wegen der relativ guten Übereinstimmung der mit Hilfe dreier Methoden gewonnenen Ausscheidungswerte für Harnsäure - man muß bedenken, daß die Urinproben zur Analyse jeweils neu aufgetaut, nach 3.3 vorbehandelt und verdünnt werden mußten - kaum wahrscheinlich. Nimmt man nun aber an, daß die in 4.1 beschriebenen Veränderungen der mittleren Harnsäureausscheidung auf einem tatsächlich eingetretenen hyperurikämisierenden Effekt der applizierten Saccharose beruhen, so böten sich dafür nachstehende Erklärungen an:

1. Die in Form des Disaccharids Saccharose verabreichte Fructose führt über eine Stimulation des Purinabbaus anfänglich zu einer Erhöhung des Serumharnsäurespiegels mit konsekutiver renaler Mehrausscheidung. Nach längerdauernder Zufuhr tritt eine Art Gewöhnungseffekt auf und die Harnsäurekonzentration im Blut normalisiert sich. Im gleichen Maße geht auch die Elimination durch die Nieren wieder zurück.

2. Die orale Fructosebelastung induziert einen initialen Anstieg der Plasmaharnsäure. Als kompensatorischer Mechanismus setzt mit entsprechender Latenz eine Steigerung der Ausscheidung ein und zwar überschießend entsprechend einem Regelkreis für die Serumkonzentration an Harnsäure als zu regelnde Größe. Dadurch sinkt die Blutharnsäure unter das Ausgangsniveau vor Fructosezufuhr; ebenso die Harnsäureclearance. Da die Stimulation durch die Fructose weiter anhält, folgt nach einiger Zeit ein erneuter geringerer Anstieg des Plasmaspiegels, der wiederum zu einer, diesmal allerdings weniger starken, überschießenden Mehrausscheidung führt. Einem dadurch verursachten zweiten Abfall der Blutharnsäure unter das Ausgangsniveau folgt nach einiger Zeit die renale Elimination analog. Auf diese Art und Weise entsteht für die Mittelwerte der Harnsäure- und auch der Oxy-purinausscheidung bei der graphischen Darstellung ein an eine gedämpfte Schwingung erinnerndes Bild.

6.0 Zusammenfassung

Ausgehend von Untersuchungen verschiedener Forschungsgruppen über das Verhalten des Serumharnsäurespiegels und der renalen Harnsäureausscheidung kurze Zeit nach intravenöser Verabreichung verschiedener Kohlenhydrate sollte geklärt werden, ob auch eine längerfristige orale Zufuhr des Disaccharids Saccharose zu einer Steigerung der Ausscheidung von Harnsäure und deren unmittelbaren Vorstufen im Intermediärstoffwechsel, den Oxypurinen Xanthin und Hypoxanthin im Urin führt. Außerdem wurde die kurze Zeit vor Beginn dieser Arbeit auf den Markt gekommene Harnsäurebestimmungsmethode Urica quant^R der Firma Boehringer Mannheim GmbH auf ihre Übereinstimmung mit den bisherigen Reverenzmethoden untersucht. Von 2 weiblichen und 4 männlichen gesunden Versuchspersonen waren dafür in einem ein Jahr vorher durchgeführten Formeldiätversuch, während dessen Durchführung diese Personen nur purinfreie Kost mit hohem Anteil an Saccharose zu sich nehmen durften, Urinproben gewonnen und tiefgefroren worden. Nach spezieller Aufbereitung wurde aus diesen Proben die Konzentration der Harnsäure mittels dreier verschiedener Methoden und außerdem die Konzentration der Oxypurine Xanthin und Hypoxanthin bestimmt und mit Hilfe der 24-Stunden Urinvolumina die Ausscheidung an Harnsäure und Oxypurinen pro 24 Stunden ermittelt. Ein erwarteter eindeutiger und auf etwa gleichem Niveau bleibender Anstieg der renalen Elimination der Purinabbauprodukte während des Zeitraums hoher oraler Saccharosezufuhr konnte nicht nachgewiesen werden. Verschiedene denkbare Erklärungsmöglichkeiten hierfür werden angegeben.

Der Vergleich der Harnsäurebestimmungsmethoden ergab gute Übereinstimmung zwischen der Methode Urica quant^R und der Uricase-Methode und befriedigende Korrelation zwischen Urica quant^R und der Methode nach L i d d l e .

7.0 Tabellen und Abbildungen

TABELLE 1

Versuchspersonen	Geschlecht	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Anfangsgewicht (kg)	Endgewicht (kg)
1	w	24	166	55,4	51,6
2	w	24	167	53,2	50,1
3	m	23	178	64,8	62,5
4	m	23	170	67,4	63,6
5	m	23	176	70,6	67,1
6	m	22	180	73,0	67,8

TABELLE 2: Zusammensetzung der Formeldiät

Nährstoffquelle	g	Nährstoff	g	Cal	Eiw. %	Fett %	KH %
Hyperproti- dine (einheitl. Charge)	114,0	Eiweiß	104,9	430,1	13,9		
Saccharose (Rohrzucker)	598,9	Kohlen- hydrat	597,7	2450,6			79,1
Butter	12,8	Fett	10,6	98,6		3,2	
Olivenöl	9,8	Fett	9,8	91,1		2,9	
Safloröl	3,0	Fett	3,0	27,9		0,9	
	738,5		726,0	3098,3	13,9	7,0	79,1

TABELLE 3: Eichkurve Methode Urica quant^R

Verdünnung	1:10	2:10	3:10	4:10	5:10	6:10	7:10	8:10	9:10	10:10
Probennr.										
1	0,026	0,069	0,084	0,138	0,169	0,174	0,215	0,238	0,288	0,322
2	0,031	0,061	0,101	0,123	0,140	0,200	0,203	0,264	0,280	0,310
3	0,034	0,059	0,097	0,116	0,157	0,196	0,224	0,252	0,287	0,328
$\bar{x}$	0,030	0,063	0,094	0,126	0,155	0,190	0,214	0,250	0,285	0,320

TABELLE 4: Zehnfachbestimmung im Serum (Methode Urica quant^R)

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$
Skt	0,205	0,205	0,204	0,194	0,201	0,206	0,218	0,210	0,209	0,195	0,205

TABELLE 5: Zehnfachbestimmung im Urin (Methode Urica quant^R)

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$
Skt	0,153	0,150	0,157	0,155	0,162	0,154	0,167	0,154	0,167	0,155	0,157

TABELLE 6: Eichkurve Uricase-Methode

Verdünnung Probennr.	1:10	2:10	3:10	4:10	5:10	6:10	7:10	8:10	9:10	10:10
1	0,009	0,020	0,035	0,043	0,055	0,065	0,080	0,096	0,114	0,128
2	0,010	0,019	0,030	0,041	0,054	0,070	0,075	0,092	0,112	0,130
3	0,012	0,024	0,031	0,048	0,057	0,065	0,081	0,092	0,104	0,120
$\bar{x}$	0,010	0,021	0,032	0,044	0,055	0,057	0,079	0,095	0,110	0,126

TABELLE 7: Zehnfachbestimmung im Serum (Uricase-Methode)

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$
Skf	0,090	0,087	0,083	0,084	0,085	0,094	0,086	0,087	0,091	0,084	0,088

TABELLE 8: Zehnfachbestimmung im Urin (Uricase-Methode)

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$
Skf	0,206	0,211	0,205	0,207	0,210	0,209	0,210	0,205	0,207	0,209	0,208

TABELLE 9: Eichkurve für Xanthin/Hypoxanthin und Harnsäure

Verdünnung		1:10	2:10	3:10	4:10	5:10	6:10	7:10	8:10	9:10	10:10
Nr.											
Extinktion Harnsäure (Skt)	1	0,010	0,024	0,034	0,043	0,060					
	2	0,011	0,025	0,033	0,043	0,061					
	3	0,011	0,025	0,036	0,047	0,059					
	$\bar{x}$	0,011	0,025	0,036	0,045	0,060					
Extinktion Xanthin u. Hypoxanthin (Skt)	1	0,005	0,007	0,012	0,015	0,018	0,022	0,025	0,023	0,014	0,036
	2	0,003	0,006	0,010	0,014	0,015	0,021	0,024	0,021	0,021	0,035
	3	0,005	0,007	0,011	0,014	0,017	0,020	0,025	0,030	0,035	0,037
	$\bar{x}$	0,005	0,007	0,011	0,014	0,016	0,021	0,025	0,026	0,033	0,036

TABELLE 10: Zehnfachbestimmung von Xanthin/Hypoxanthin und Harnsäure

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$\bar{x}$
HS	0,111	0,110	0,112	0,110	0,108	0,110	0,112	0,112	0,111	0,111	0,111
X/HX	0,006	0,007	0,006	0,006	0,004	0,007	0,001	0,001	0,004	0,002	0,004

TABELLE 13: Harnsäureausscheidung im Urin (mg/24 h), Methode Urica-quant^R

Datum VP		Dextrosin		Saccharose										Dextrosin	
		21.6.	22.6.	23.6.	24.6.	25.6.	26.6.	27.6.	28.6.	29.6.	30.6.	1.7.	2.7.	3.7.	
1		412,0	176,1	369,6	295,1	221,5	340,2	251,6	264,5	340,0	305,6	233,1	279,9	257,2	
2		360,9	438,5	356,0	311,9	187,4	52,3	192,9	298,1	258,4	305,4	151,3	503,7	707,6	
3		152,9	248,1	650,7	318,9	162,7	200,1	219,6	436,9	462,3	278,2	331,5	273,0	243,5	
4		273,8	385,9	411,2	358,1	323,4	393,7	301,2	358,1	319,1	361,0	370,2	327,0	229,1	
5		254,5	326,2	297,1	390,4	225,7	387,2	496,3	321,3	400,4	351,6	296,9	301,4	384,4	
6		577,8	394,9	854,5	386,4	555,8	337,8	624,5	583,7	468,6	362,3	433,1	1079,4	532,9	
$\bar{x}_{1-6}$		338,6	328,3	490,3	343,4	279,4	285,2	347,7	377,1	374,8	327,3	302,6	460,7	392,4	
$\bar{x}_{1-5}$		290,8	314,9	417,5	334,9	224,1	274,7	292,3	335,8	356,0	320,4	276,6	332,4	364,3	

Tabelle 15: Harnstoffaustausch im Urin (mg/l), Methode nach Linder

Datum VP	Dextrosin		Saccharose										Dextrosin	
	21.6.	22.6.	23.6.	24.6.	25.6.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	1.7.	2.7.	3.7.
1	355,5	221,3	339,3	343,9	270,2	275,4	276,0	311,0	90,5	274,5	273,4	237,2	305,4	
2	293,1	340,4	254,5	300,4	201,7	44,2	200,7	200,7	22,2	210,0	155,4	323,0	200,2	
3	207,7	307,5	49,2	202,7	187,1	359,5	240,7	415,2	415,0	275,1	243,3	263,7	243,5	
4	329,5	441,5	334,3	301,1	312,5	105,0	510,5	311,2	234,2	255,5	347,4	325,7	312,2	
5	337,3	325,4	354,9	345,4	223,4	401,3	572,2	225,3	44,3	322,5	322,5	322,4	420,6	
6	441,5	439,5	317,5	400,7	515,1	303,5	361,2	522,5	522,1	402,0	444,4	525,2	573,7	
$\bar{x}_{1-5}$	322,2	330,3	463,2	353,7	271,1	274,3	270,2	400,5	327,2	327,1	215,2	350,4	255,5	
$\bar{x}_{1-5}$	242,3	201,4	271,2	250,3	257,1	251,4	21,2	252,2	37,7	224,3	219,3	295,4	225,1	

Abb. 1

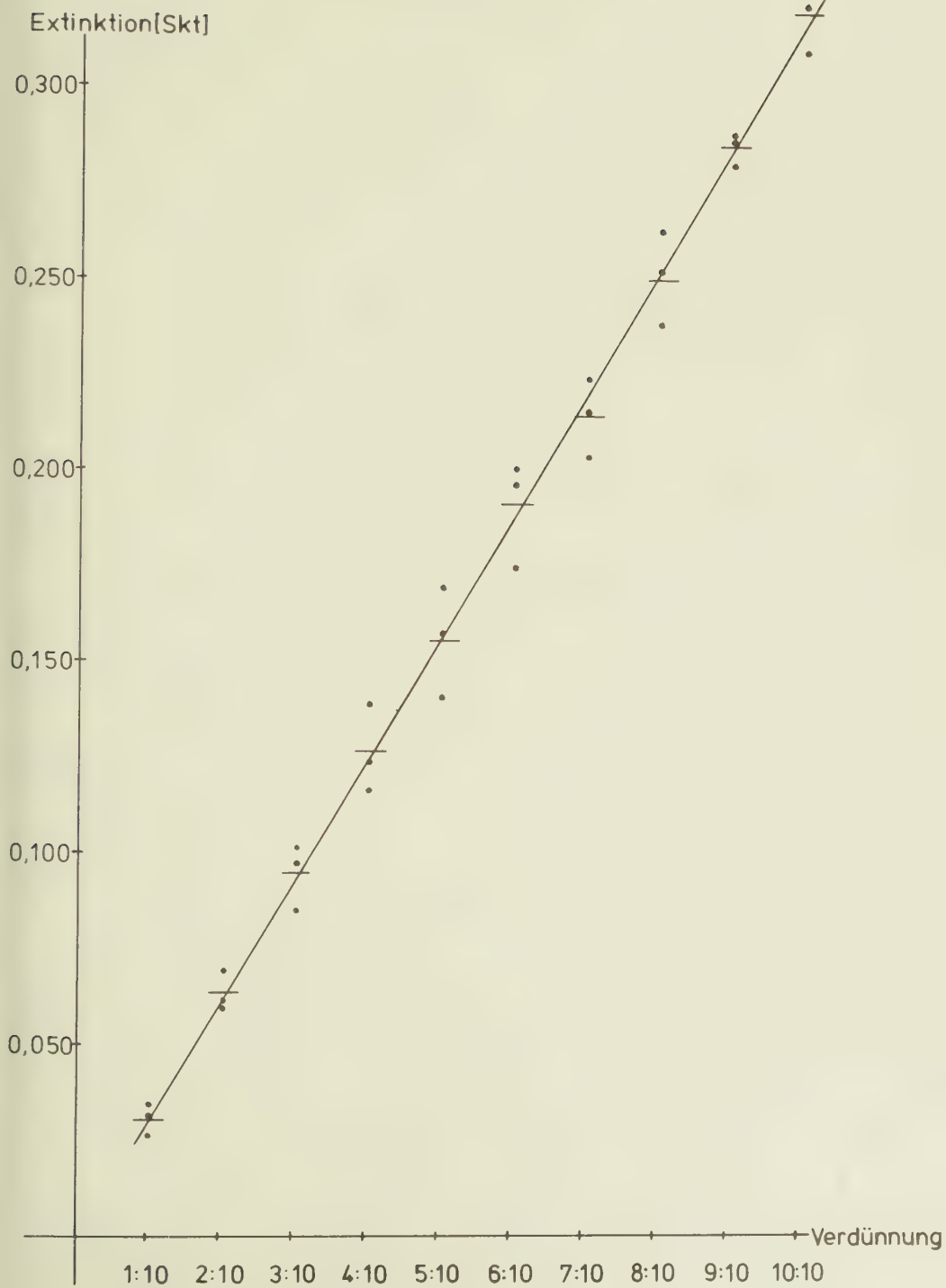


Abb 3

Extinktion[Skt]

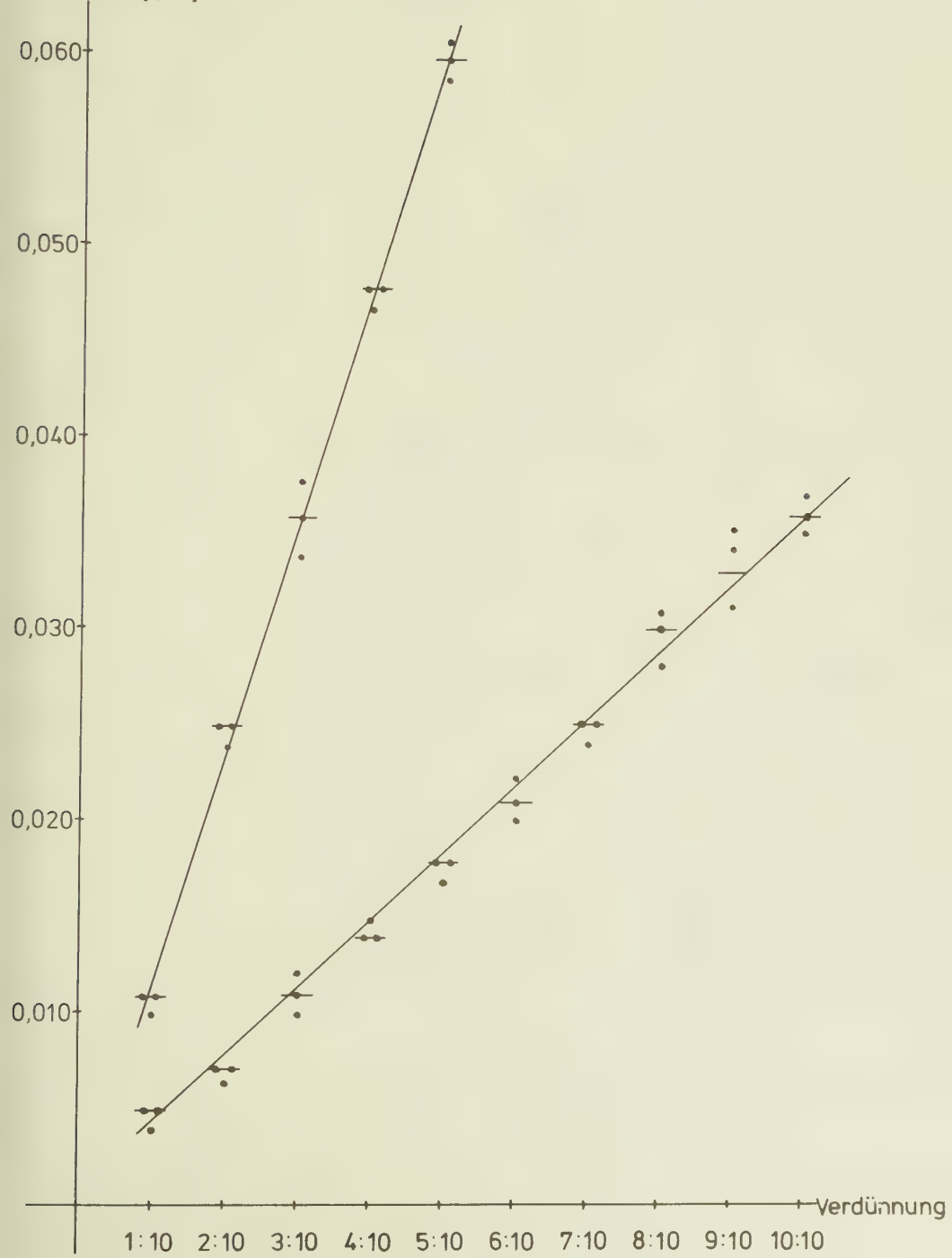


Abb 4



Abb 5

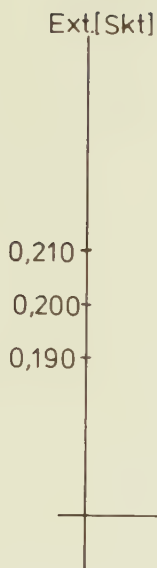


Abb 6

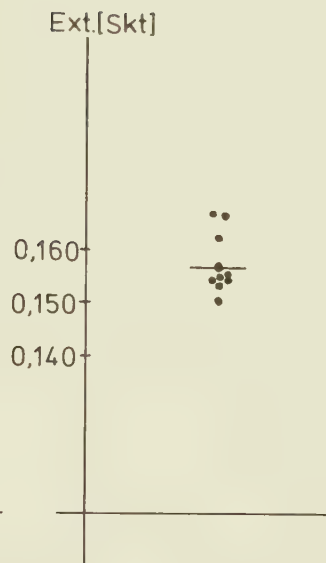


Abb 7

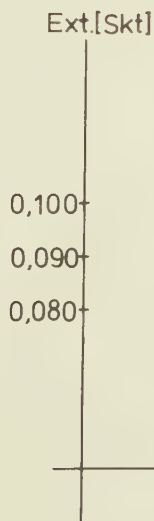
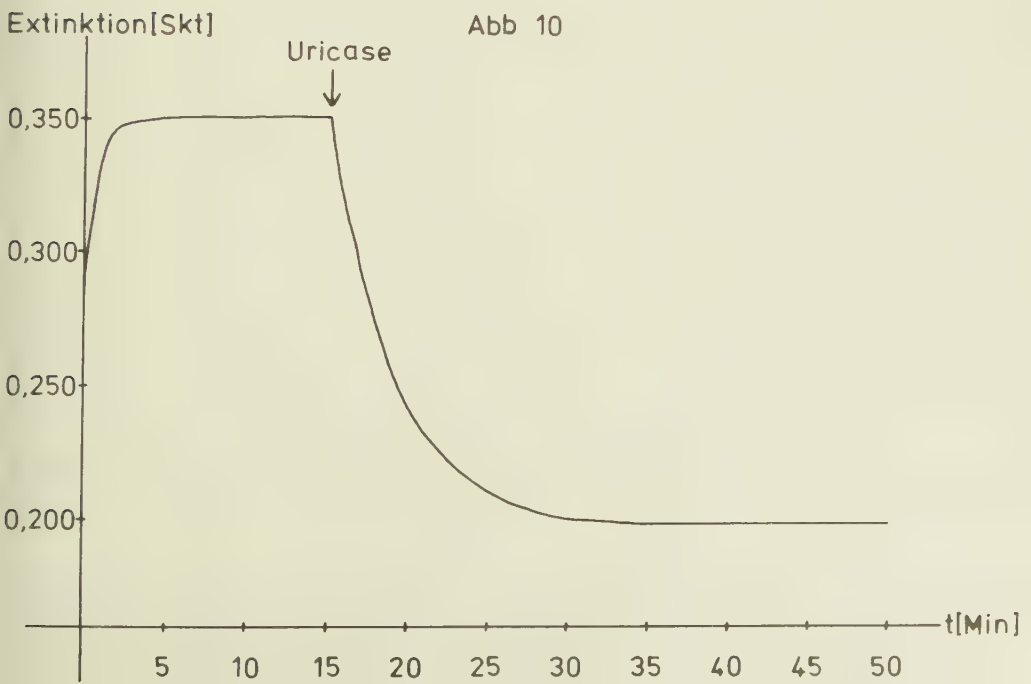
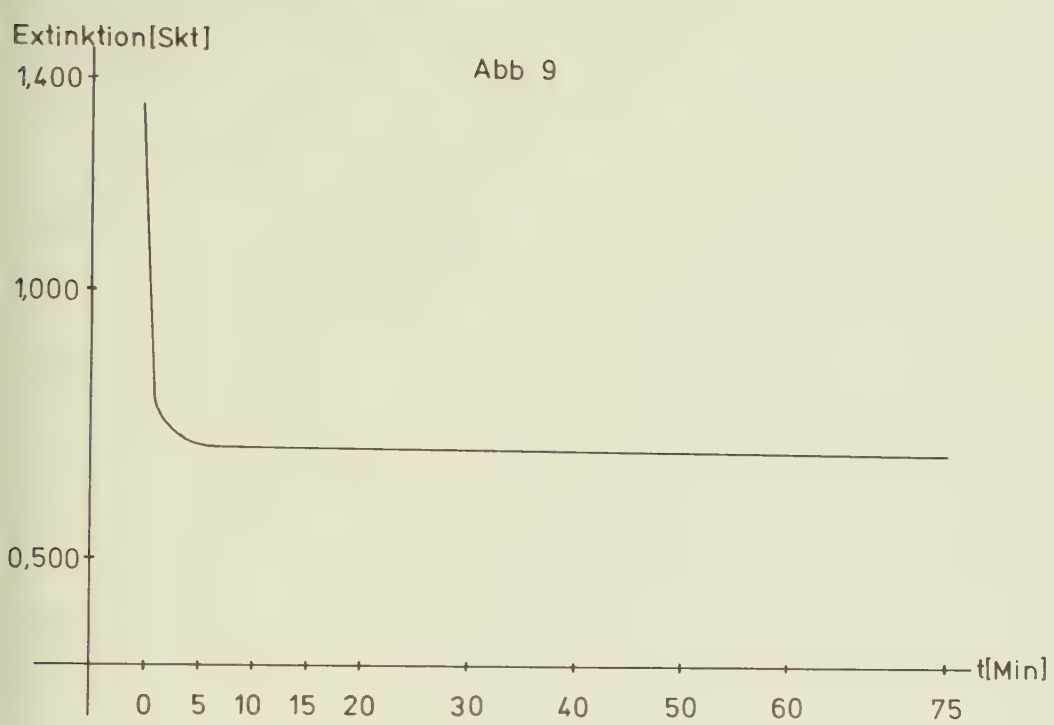


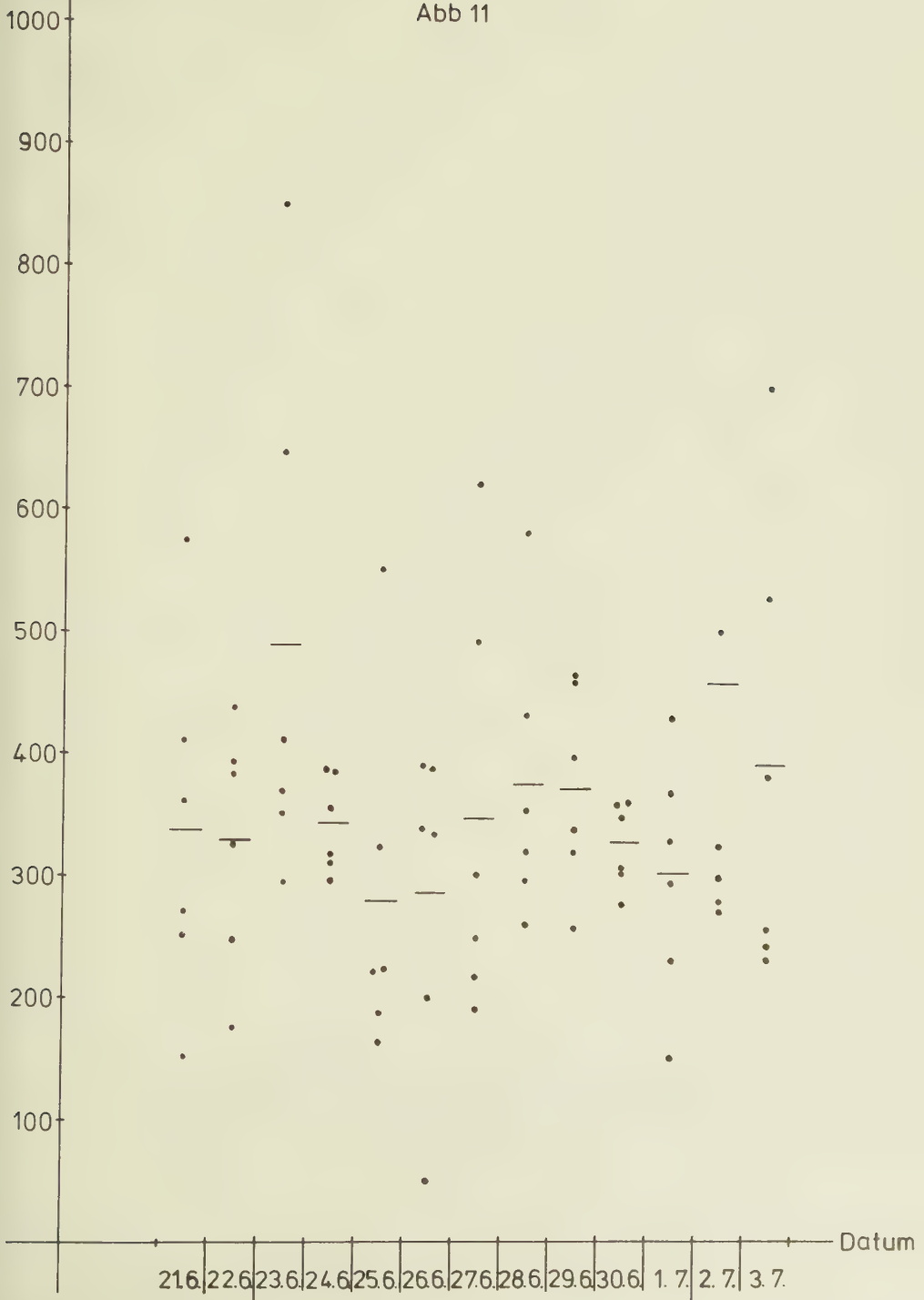
Abb 8





Harnsäure
[mg/24h]

Abb 11



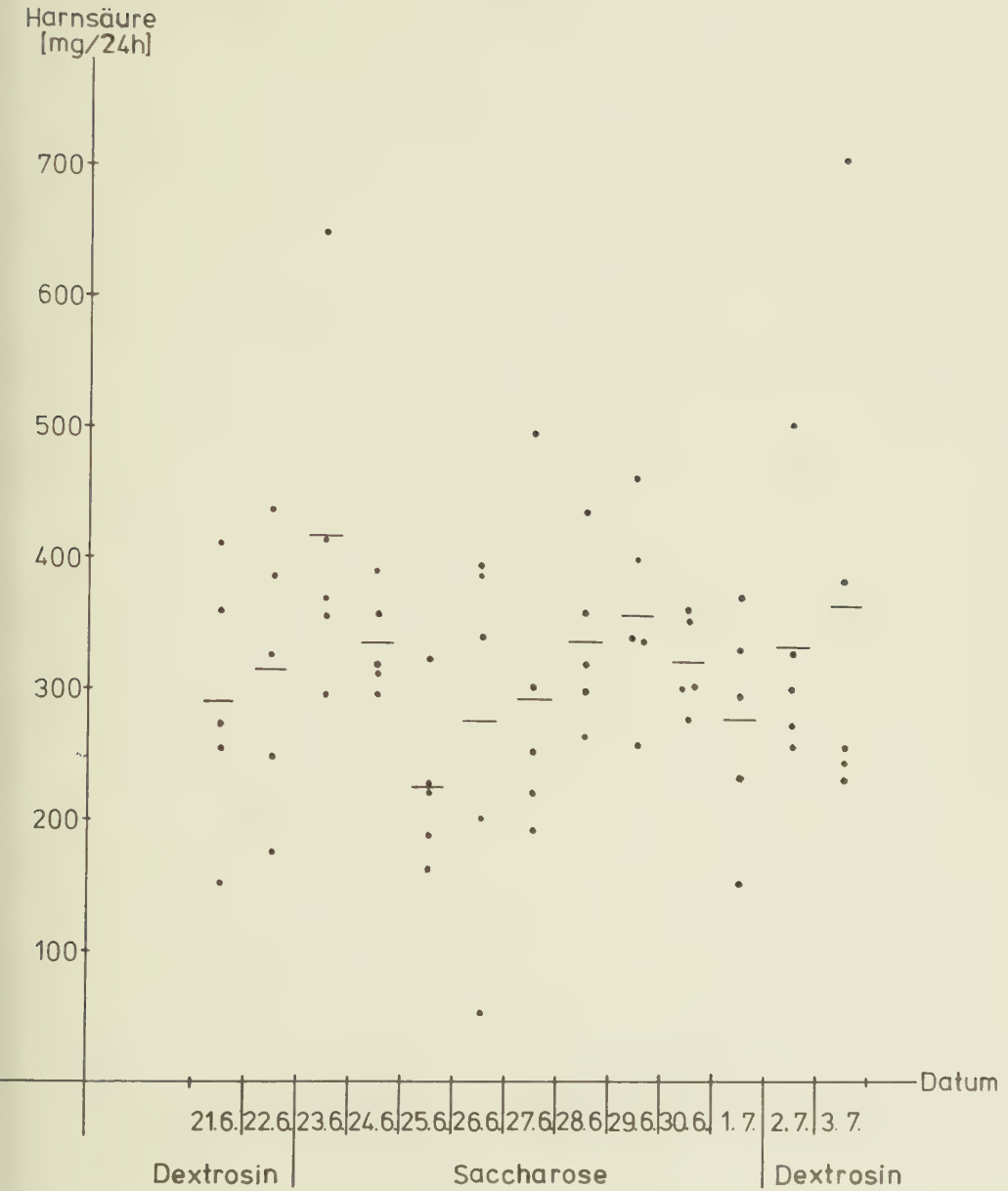
Dextrosin

Saccharose

Dextrosin

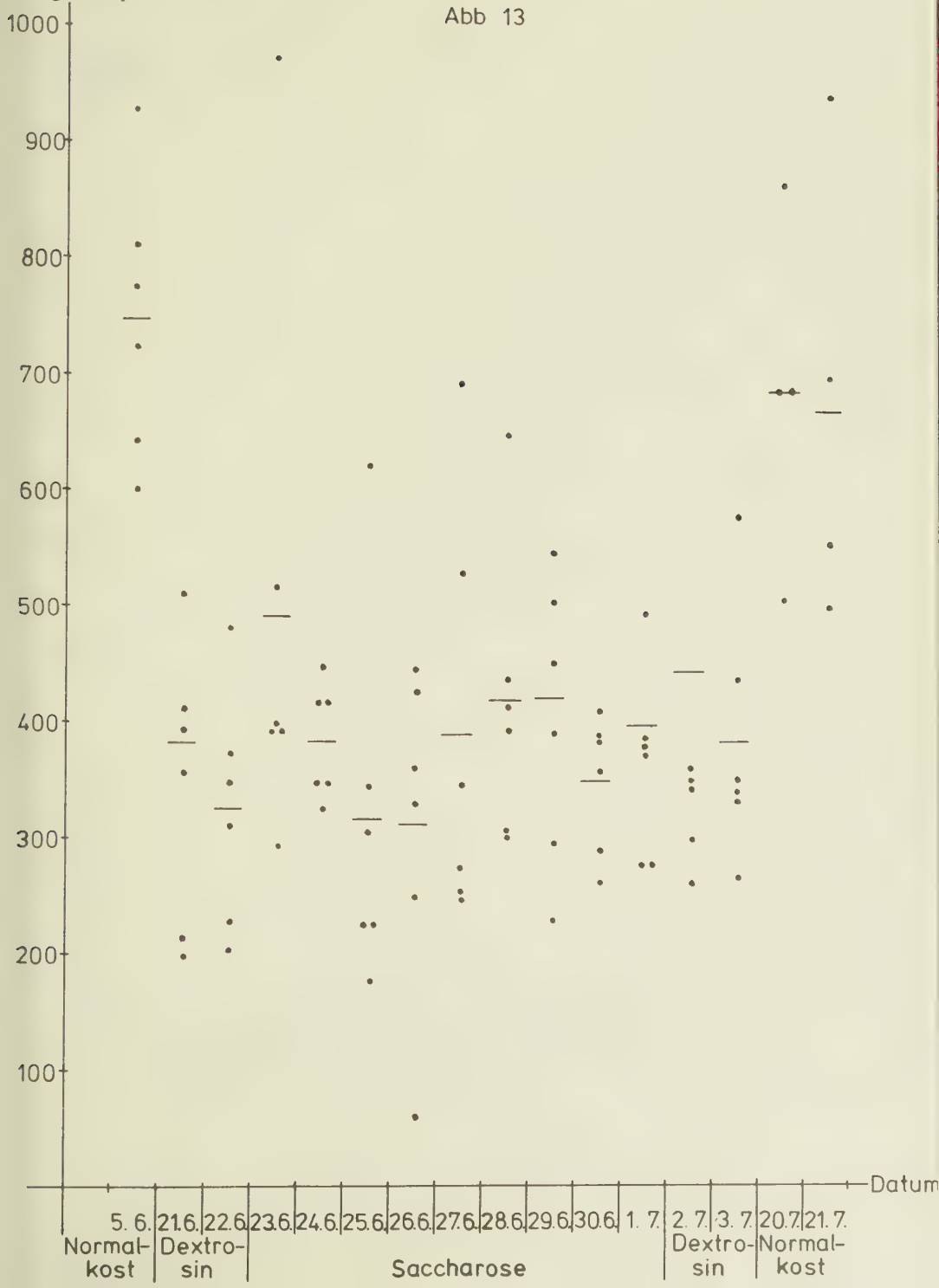
Datum

Abb 12



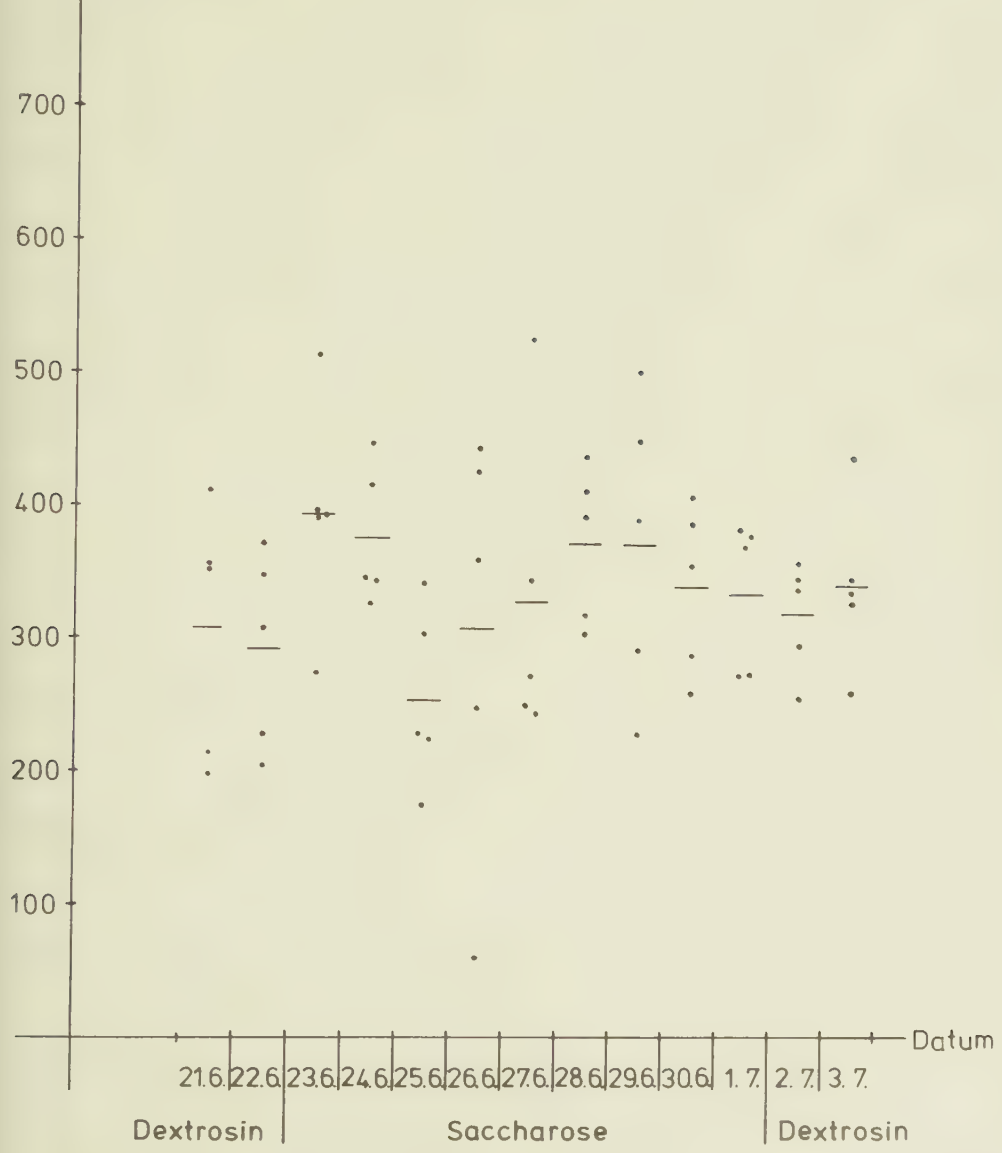
Harnsäure
[mg/24h]

Abb 13



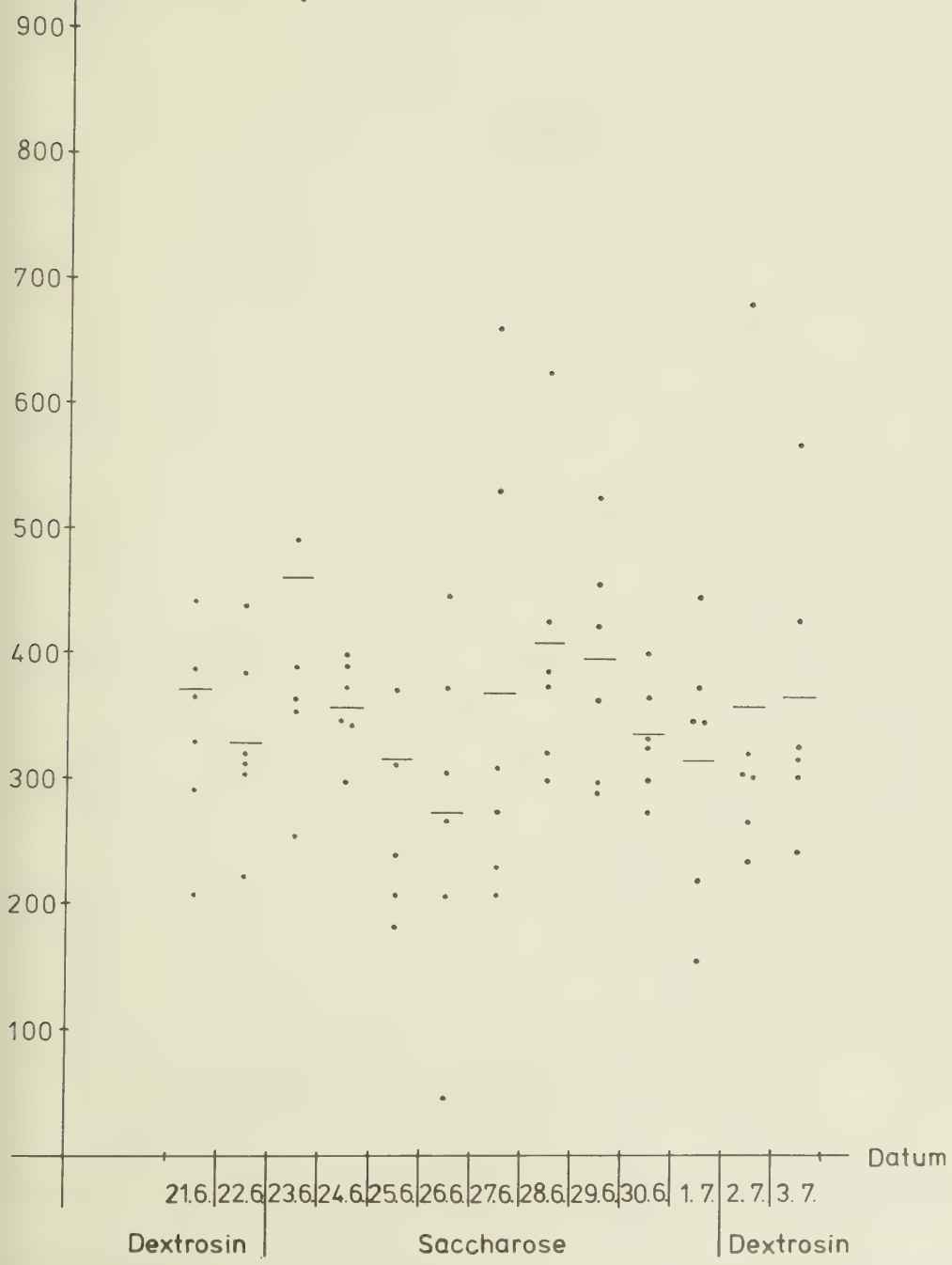
Harnsäure
[mg/24h]

Abb 14



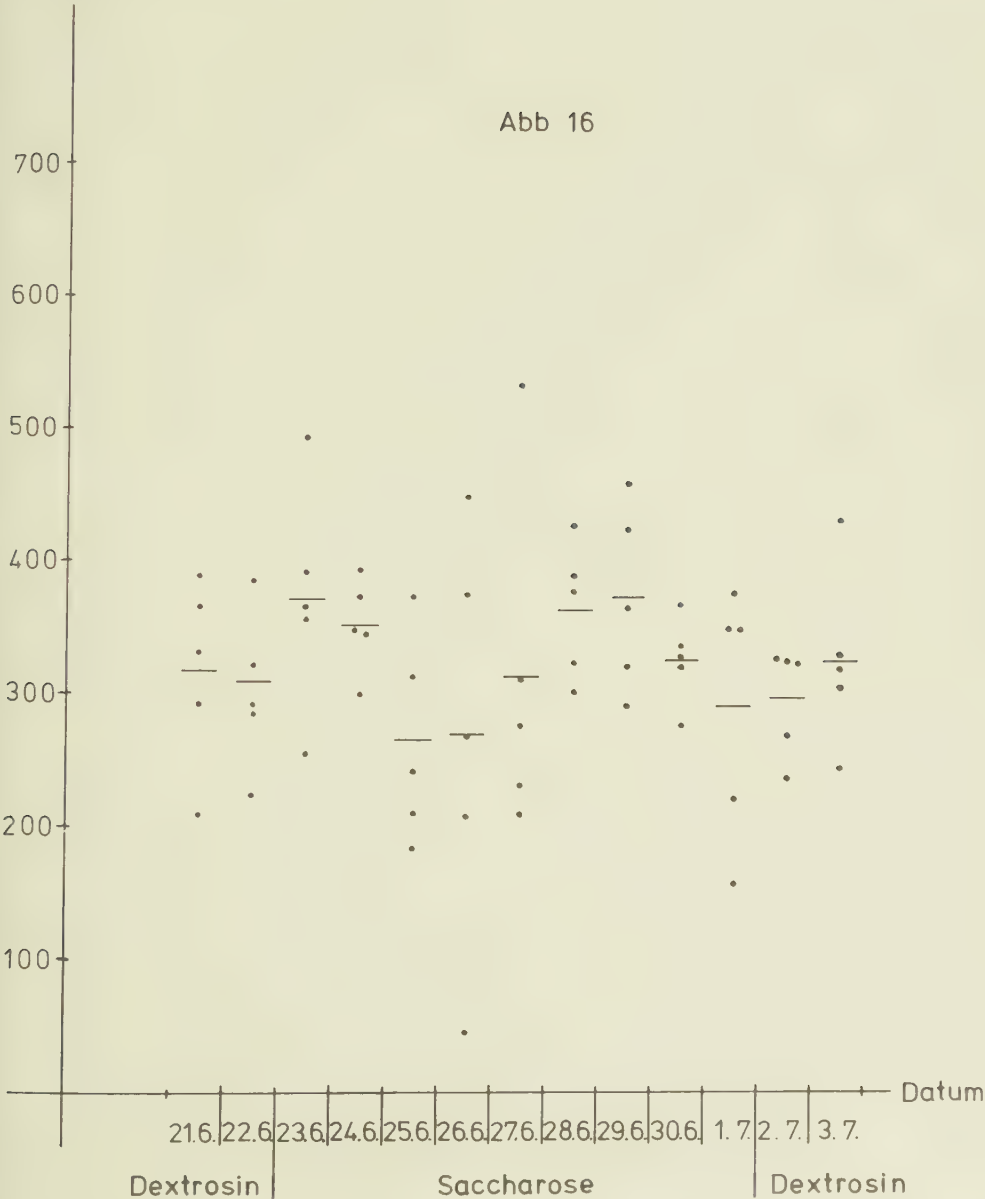
Harnsäure
[mg/24h]

Abb 15



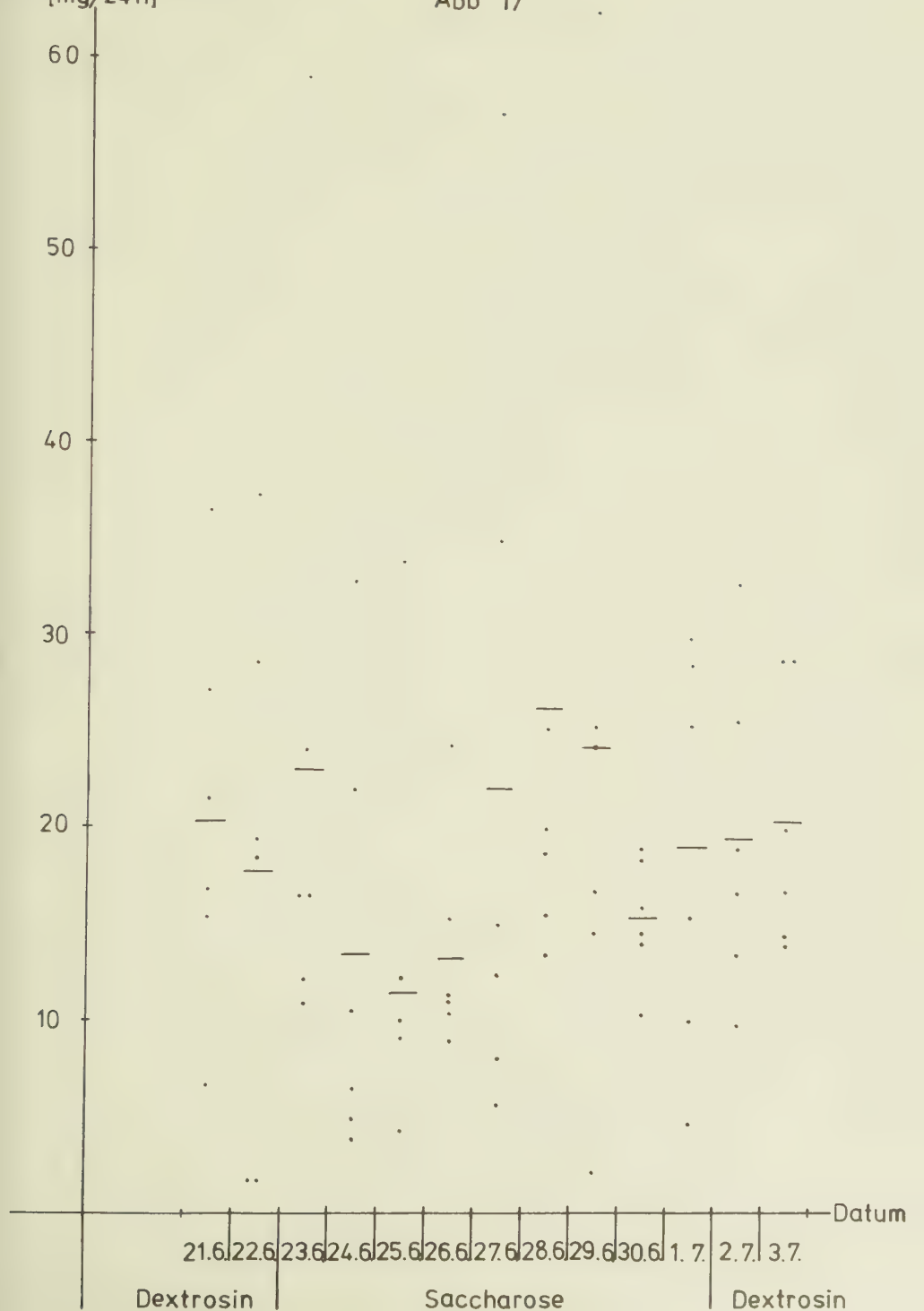
Harnsäure
[mg/24h]

Abb 16



Xanthin/Hypoxanthin
[mg/24 h]

Abb 17



Xanthin/Hypoxanthin
[mg/24h]

Abb 18

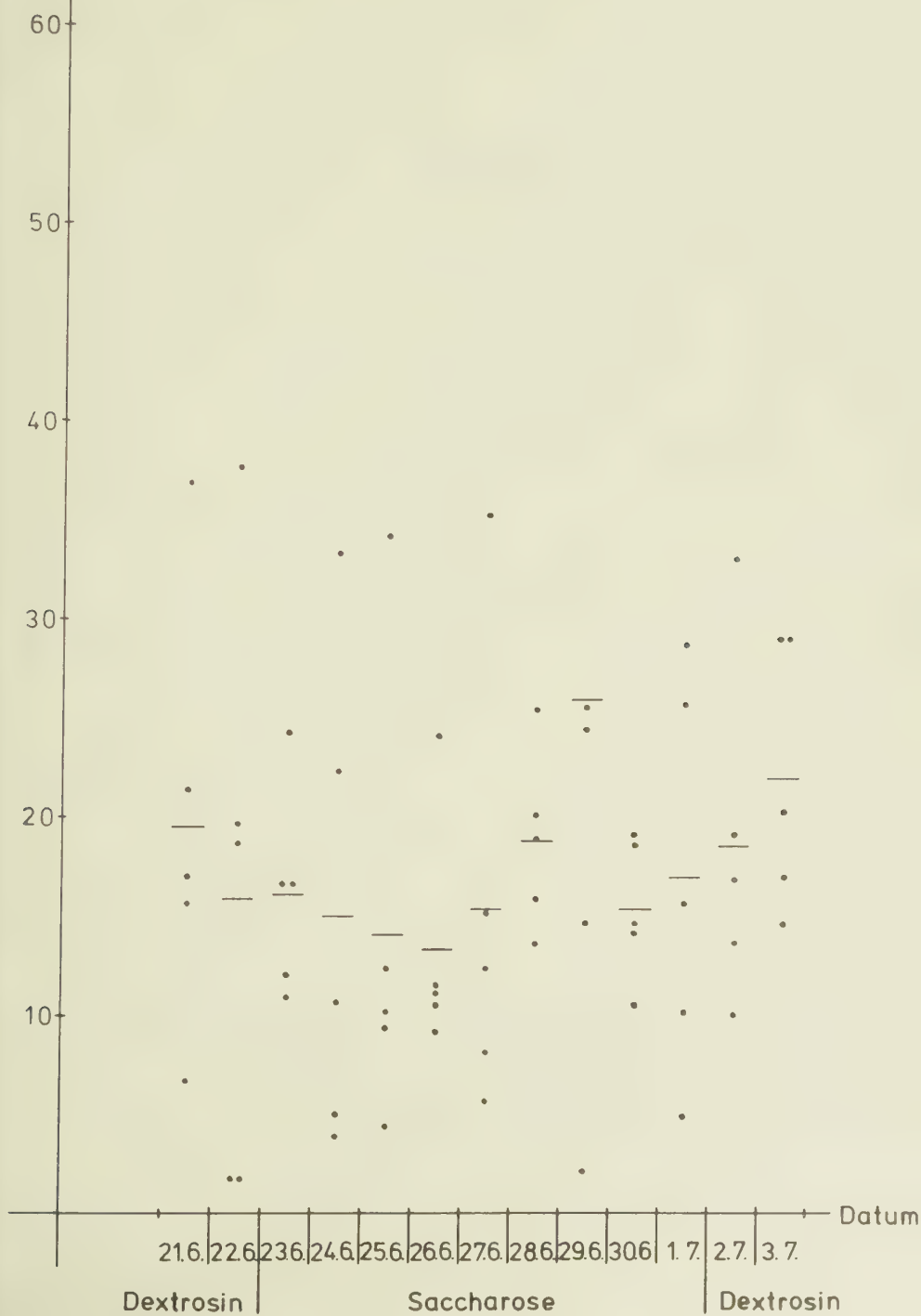


Abb 19

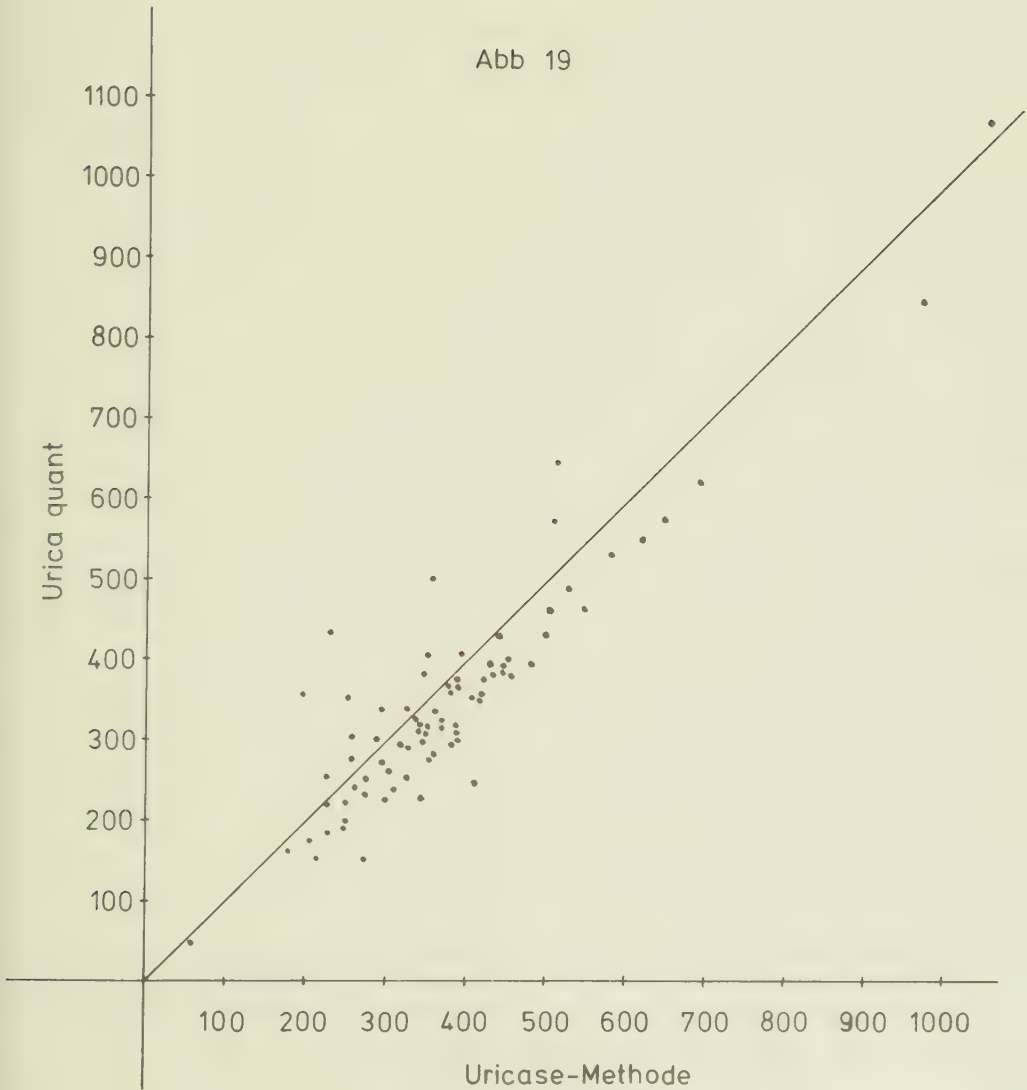


Abb 20

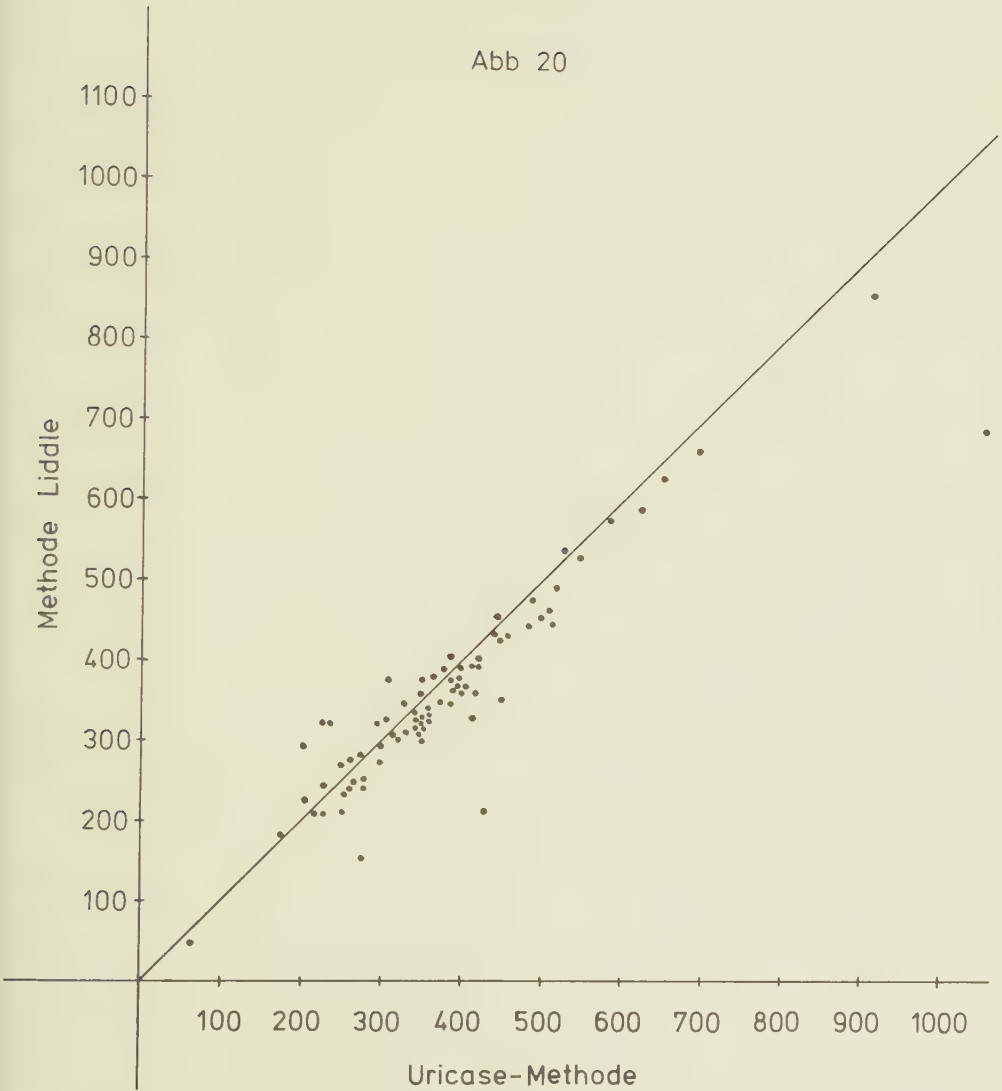
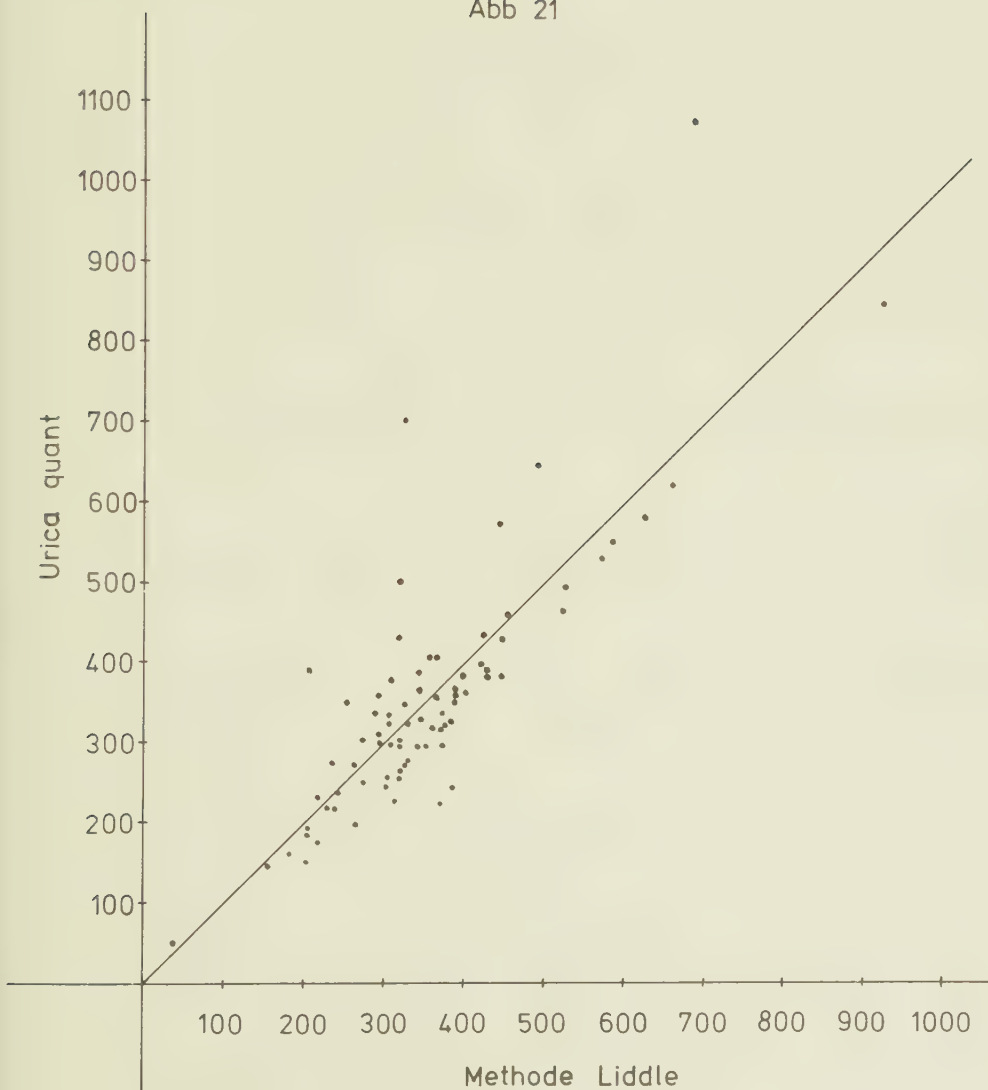


Abb 21



8.0 Literatur

- 1 Bergmann F., S. Dikstein and M. Chaimovitz: Notes on the quantitative determination of xanthines and uric acids in plasma. J. Biol. Chem. 230 (1958) 193
- 2 Bergström J., E. Hultman, A. E. Roch-Norlund: Lactic acid accumulation in connection with fructose infusion. Acta med. scand. 184 (1968) 359
- 3 Brochner-Mortensen K.: Diagnosis of gout. Acta med. scand. 99 (1939) 538
- 4 Burch R. E., N. Kurke: The effect of lactate infusion on serum uric acid. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 127 (1968) 17
- 5 Burian R., H. Schur: Über die Stellung der Purinkörper im menschlichen Stoffwechsel. Pflügers Arch. ges. Physiol. 80 (1900) 24
- 6 Burian R., H. Schur: Das quantitative Verhalten der menschlichen Harn-Purin-Ausscheidung. Pflügers Arch. ges. Physiol. 94 (1903) 273
- 7 Burian R.: Die Bildung der Harnsäure im Organismus des Menschen. Med. Klin. 1 (1905) 131
- 8 Cannon P. J., H. O. Heinemann, W. B. Stason, J. H. Laragh: Ethacrynic acid. Effectiveness and mode of diuretic action in man. Circulation 31 (1965) 5
- 9 Cristofori F. C., G. G. Duncan: Uric acid excretion in obese subjects during periods of total fasting. Metabolism 13 (1964) 303
- 10 Förster H., E. Meyer, M. Ziege: Erhöhung

von Serumharnsäure und Serumbilirubin nach hochdosierten Infusionen von Sorbit, Xylit und Fructose. Klin. Wschr. 48 (1970) 878

- 11 F ö r s t e r H., E. M e h n e r t , J. A l h o u g : Anstieg der Serumharnsäure nach Fructose. Klin. Wschr. 45 (1967) 436
- 12 F ö r s t e r H., M. Z i e g e : Anstieg der Serumharnsäurekonzentration nach oraler Zufuhr von Fructose, Sorbit und Xylit. Z. Ernährungswiss. 10 (1971) 394
- 13 F ö r s t e r H.: Grundlagen für die Verwendung der drei Zuckeraustauschstoffe Fructose, Sorbit und Xylit. Medizin u. Ernährung 13 (1972) 394
- 14 R o x I. B., W. B. K e l l e y : Studies on the mechanism of fructoseinduced hyperuricemia in man. Metabolism 21 (1972) 713
- 15 G i b s o n H. V., E. A. D o i s y : A note on the effect of some organic acids upon the uric acid excretion of man. J. Biol. Chem. 55 (1923) 605
- 16 G r i e b s c h A., E. B o n n e r , N. Z ö l l n e r : Abhängigkeit der Harnsäureplasmaspiegel von der Nukleinsäurezufuhr. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 76 (1970) 849
- 17 G u d z e n t F.: Gicht und Rheumatismus. Springer, Berlin 1928
- 18 H e u c k e n k a m p P.-U., N. Z ö l l n e r : Xylitbilanz während mehrstündiger Infusionen mit konstanten Zufuhraten bei gesunden Menschen. Klin. Wschr. 50 (1972) 1063
- 19 H e u c k e n k a m p P.-U., K. S c h i l l , N. Z ö l l n e r : Zum Mechanismus des Serumharnsäureanstiegs unter kon-

- stanter Fructoseinfusion beim Menschen. Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 77 (1971) 177
- 20 J o r g e n s e n S., and H. E. P o u l s e n : Enzymic determination of hypoxanthine and xanthine in human plasma and urine. Acta Pharmacol. Toxicol. 11 (1955) 223
 - 21 K a g e y a m a N.: A direct colorimetric determination of uric acid in serum and urine with uricase-catalase system. Clin. chim. Acta 31 (1971) 421
 - 22 K a l c k a r H. A.: Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. I. Determination of hydroxypurine compounds. J. Biol. Chem. 167 (1947) 429
 - 23 K e l l e y W. N., L. L. B e a r d m o r e : Allopurinol: Alteration in pyrimidine metabolism in man. Science 169 (1970) 388
 - 24 K l i n e n b e r g J. R., S. E. G o l d f i n g e r , K. H. B r a d l e y and J. S e e g m i l l e r : An enzymatic spectrophotometric Method for the Determination of Xanthine and Hypoxanthine. Clinical Chemistry 13 (1967) 834
 - 25 K r a k o f f I. H., M. E. B a l i s : Studies on the urogenic effect of 2-substituted thiadiazoles in man. J. clin. Invest. 38 (1959) 907
 - 26 L a r a g h J. H., H. O. H e i n e m a n , F. E. D e - m a r t i n i : Effect of chlorothiazide on electrolyte transport in man. Its use in the treatment of edema of congestive heart failure, nephrosis and cirrhosis. J. Amer. med. Ass. 166 (1958) 145
 - 27 L e n n o x W. G.: Increase of uric acid in the blood during prolonged starvation. J. Amer. med. Ass. 82 (1924) 602

- 28 L e n n o x W. G.: A study of the retention of uric acid during fasting. J. biol. Chem. 66 (1925) 521
- 29 L e s c h M., W. L. N y h a n : A familial disorder of uric acid metabolism and central nervous system dysfunction. Amer. J. Med. 36 (1964) 561
- 30 L i d d l e L., J. E. S e e g m i l l e r and L. L a - s t e r : The enzymatic spectrophotometric method for determination of uric acid. J. Lab. Clin. Med. 54 (1959) 903
- 31 L i e b e r S. L., D. P. J o n e s , M. S. L o s o w s k y , C. S. D a v i d s o n : Interrelation of uric acid and ethanol metabolism in man. J. clin. Invest. 41 (1962) 1863
- 32 M a c l a c h l a n M. J., G. P. R o d n a n : Effects of food, fast and alcohol on serum uric acid and acute attacks of gout. Amer. J. Med. 42 (1967) 38
- 33 M ä e n p ä ä P. H., K. R a i v i o , M. P. K e k o m ä - k i : Liver adenine nucleotides: Fructose-induced depletion and its effect on protein synthesis. Science 161 (1968) 1253
- 34 M e h n e r t H., H. F ö r s t e r : Fructose-induced hyperuricemia. Lancet 1967/II 1205
- 35 M e r t z D. P.: Gicht. Therapiewoche: 21 (1971) 162
- 36 M e r t z D. P.: Pharmakologische Eigenschaften von Hydrochlorothiazid im Vergleich zur Wirkung anderer Diuretika. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 237 (1959) 71
- 37 M e r t z D. P., V. K a i s e r , M. K l ö p f e r - Z a a r , H. B e i s b a r t h : Fett- und Harnsäurestoffwechsel unter der akuten Wirkung von Xylit. Klin. Wschr. 50 (1972) 1097

- 38 M e r t z D. P., V. K a i s e r , M. K l ö p f e r -
Z a a r , H. B e i s b a r t h : Serumkonzentrationen ver-
schiedener Lipide und von Harnsäure während 2wöchiger Verab-
reichung von Xylit. Klin. Wschr. 50 (1972) 1107
- 39 M o r g u l i s S., A. C. E d w a r d s : Chemical changes
in the blood during fasting and subsequent refeeding. Amer. J.
Physiol. 68 (1924) 477
- 40 M u d g e G. H., J. C u c c h i , M. P l a t t s , J. M.
B r i a n O' C o n n e l , W. O. B e r n d t : Renal ex-
cretion of uric acid in the dog. Amer. J. Physiol. 215 (1968)
404
- 41 M u r p h y R., K. H. S h i p m a n : Hyperuricemia during
total fasting. Arch. intern. Med. 112 (1963) 954
- 42 N i c h o l l s A., M. L. S n a i t h , J. T. S c o t t :
Effect of oestrogen therapy on plasma and urinary levels of
uric acid. Brit. med. J. 1973/I 449
- 43 N u g e n t C. A. : Renal urate excretion in gout studied by
feeding ribonucleic acid. Arthritis rheumat. 8 (1965) 671
- 44 P e r h e e n t u p a J., K. R a i v i o : Fructose-induced
hyperuricemia. Lancet 1967/II 528
- 45 P e t e r s e n B., J. J o r n i and S. J o r g e n s e n :
Separate enzymatic determination of hypoxanthine and xanthine
in human urine. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 17 (1965) 454
- 46 P r a e t o r i u s E. and H. P o u l s e n : Enzymatic
determination of uric acid with detailed directions. Scand.
J. clin. Lab. Invest. 5 (1953) 273
- 47 Q u i c k , A. J. : The effect of exercise on the excretion

of uric acid with a note on the influence of benzoic acid on uric acid elimination in liver diseases. J. Biol. Chem. 110 (1935) 107

- 48 R a i v i o K. O., M. P. K e k o m ä k i , P. H. M ä e n -
p ä ä : Dipletion of liver adenine nucleotids induced by
D-fructose. Dosedependence and specifity of the fructose effect.
Biochem. Phar. 18 (1969) 2615
- 49 R e u t t e r F., F. S c h a u o : Harnsäurestoffwechsel
und Salidiuretika. Dtsch. med. Wschr. 89 (1964) 1101
- 50 S c h i r m e i s t e r J., H. W i l l m a n n : Über die
Harnsäure- und andere Clearances nach intravenöser Gabe von
Furosemid beim Menschen. Klin. Wschr. 42 (1964) 623
- 51 S e e g m i l l e r I. E., A. I. G r a y z e l , C. P l a -
t o , R. R. H o w e l l : The renal excretion of uric acid
in gout. J. clin. Invest. 5 (1962) 41
- 52 S e h e b j a m i H., R. S c a l e t t a r : Effects of fruc-
tose infusion on lactate and uric acid metabolism. Lancet
1971/II 366
- 53 Urica quant^R, Test-Fibel, Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica
- 54 V i g l i o g l i a P. A., G. E. P l a n t e , J. V i g -
l i o g l i a , E. F. S a r a c e n o : Allopurinol in psor-
iasis. Dermatologica 141 (1970) 203
- 55 W a s l i e n C. J., D. H. C a l l o w a y , S. M a r -
g e n : Uric acid production in men fed graded amounts of egg
protein and yeast nucleic acid. Am. J. clin. Nutrition 9
(1968) 892
- 56 W i l l i a m s J. N., Jr.: A micromethod for the determi-

nation of xanthine and guanine in urine. J. Biol. Chem. 184
(1950) 627

- 57 Y ü T. F., J. H. S i r o t a , L. B e r g e r , M.
H a l p e r n , A. B. G u t m a n : Effect of sodium lac-
tate infusion on urate clearance in man. Proc. Soc. exp. Biol.
96 (1957) 809
- 58 Z ö l l n e r N.: Eine einfache Modifikation der enzymati-
schen Harnsäurebestimmung. Normalwerte in der deutschen Be-
völkerung. Z. Klin. Chem. 1. Jahrgang, Heft 6 (1963) 178

Lebenslauf

Am 25. August 1949 wurde ich als zweites Kind des Landwirts Ludwig Danner und seiner Ehefrau Anna in Sünching, Kreis Regensburg, geboren.

Von 1960 bis 1969 besuchte ich nach 5 Jahren Volksschule das Goethe-Gymnasium in Regensburg, wo ich auch die Reifeprüfung ablegte.

Im Herbst 1969 begann ich an der Universität Ulm das Medizinstudium, das ich nach 6 Semestern an der Ludwig-Maximilians-Universität in München fortsetzte. Dort bestand ich auch im Sommer 1975 das Medizinische Staatsexamen.

Anschließend leistete ich meine Medizinalassistentenzeit am Kreis-Krankenhaus Bogen/Niederbayern ab. Nach weiterer viermonatiger Tätigkeit als Assistenzarzt für Chirurgie am selben Hause wurde ich zur Bundeswehr eingezogen und war von Februar bis Oktober 1977 in Freyung als Truppenarzt eingesetzt. Seit November diesen Jahres leiste ich den Rest meines bis Ende April 1978 dauernden Grundwehrdienstes als Bataillonsarzt in Cham ab.

Mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation war ich vom Sommer 1973 bis zum Winter 1974 beschäftigt.

Herrn Professor Dr. N. Zöllner möchte ich danken, daß er mir die Möglichkeit gab, meine Arbeit an seiner Klinik durchzuführen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. G. Wolfram, der mir freundlicherweise das Thema der Arbeit überließ, mir mit seinem Rat stets zur Seite stand und die notwendigen Korrekturen durchführte.

